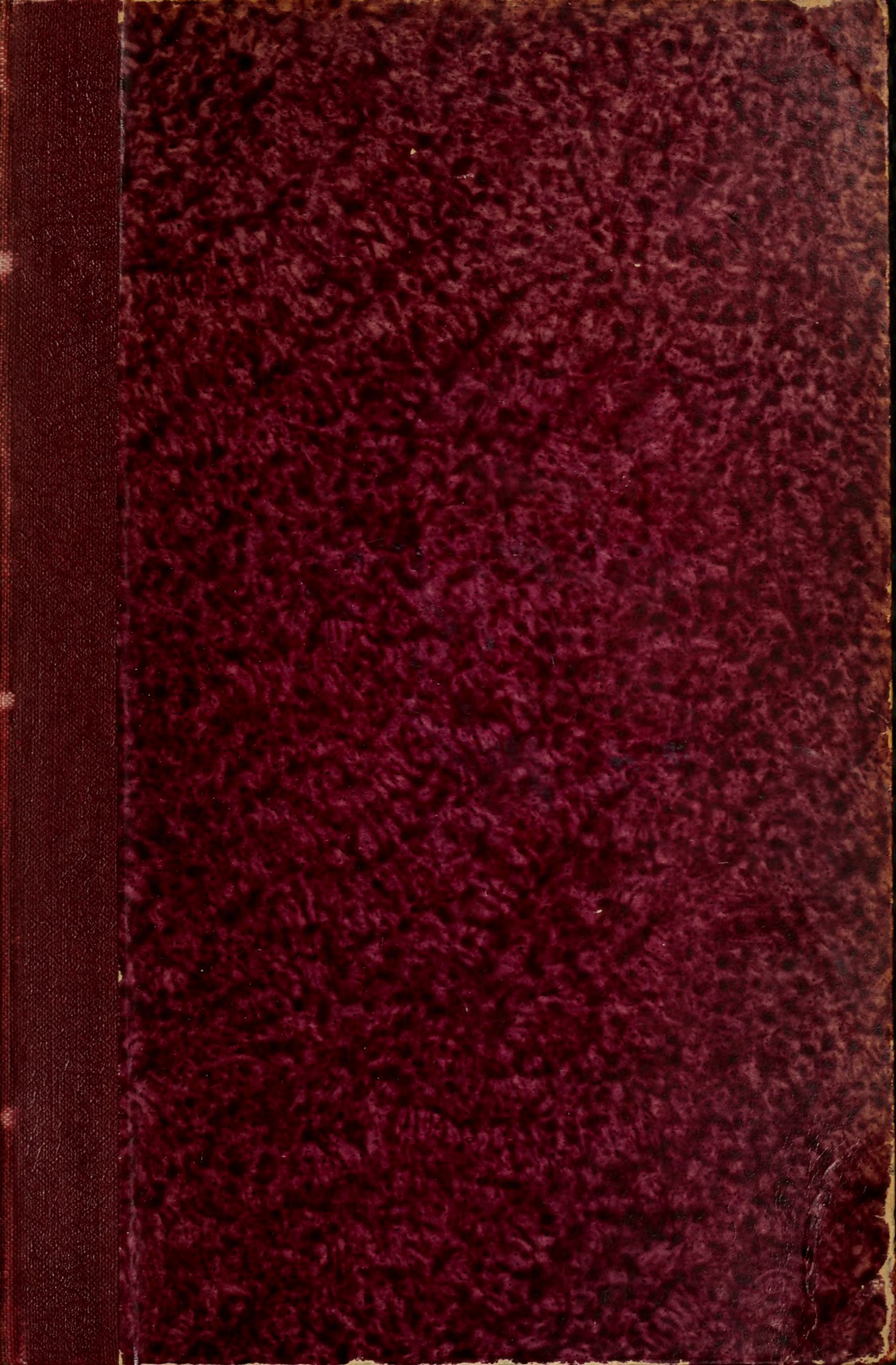
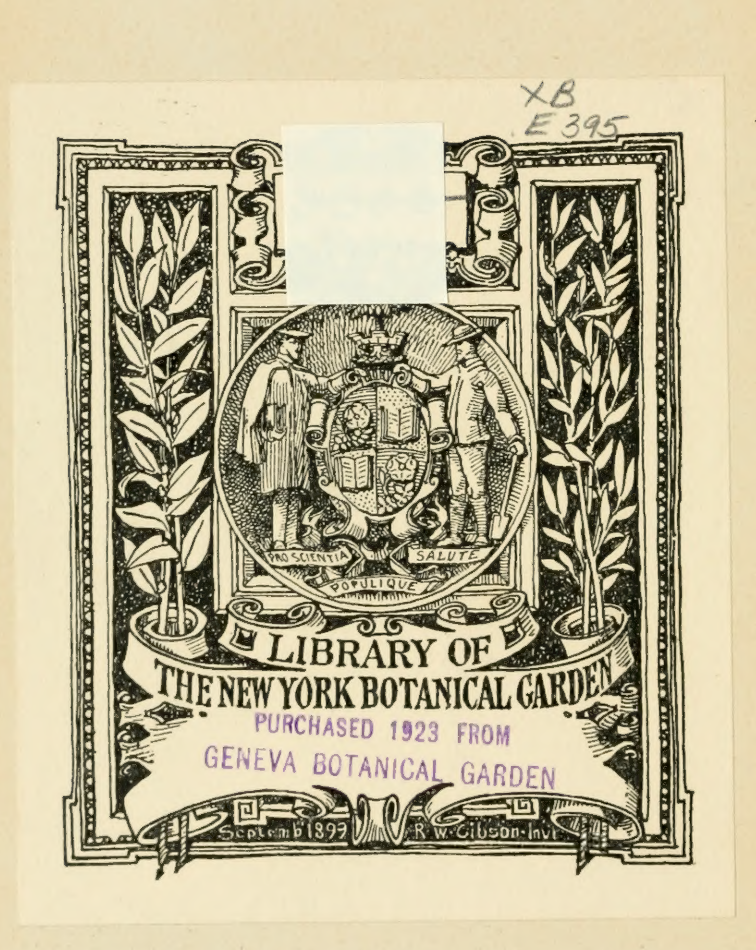
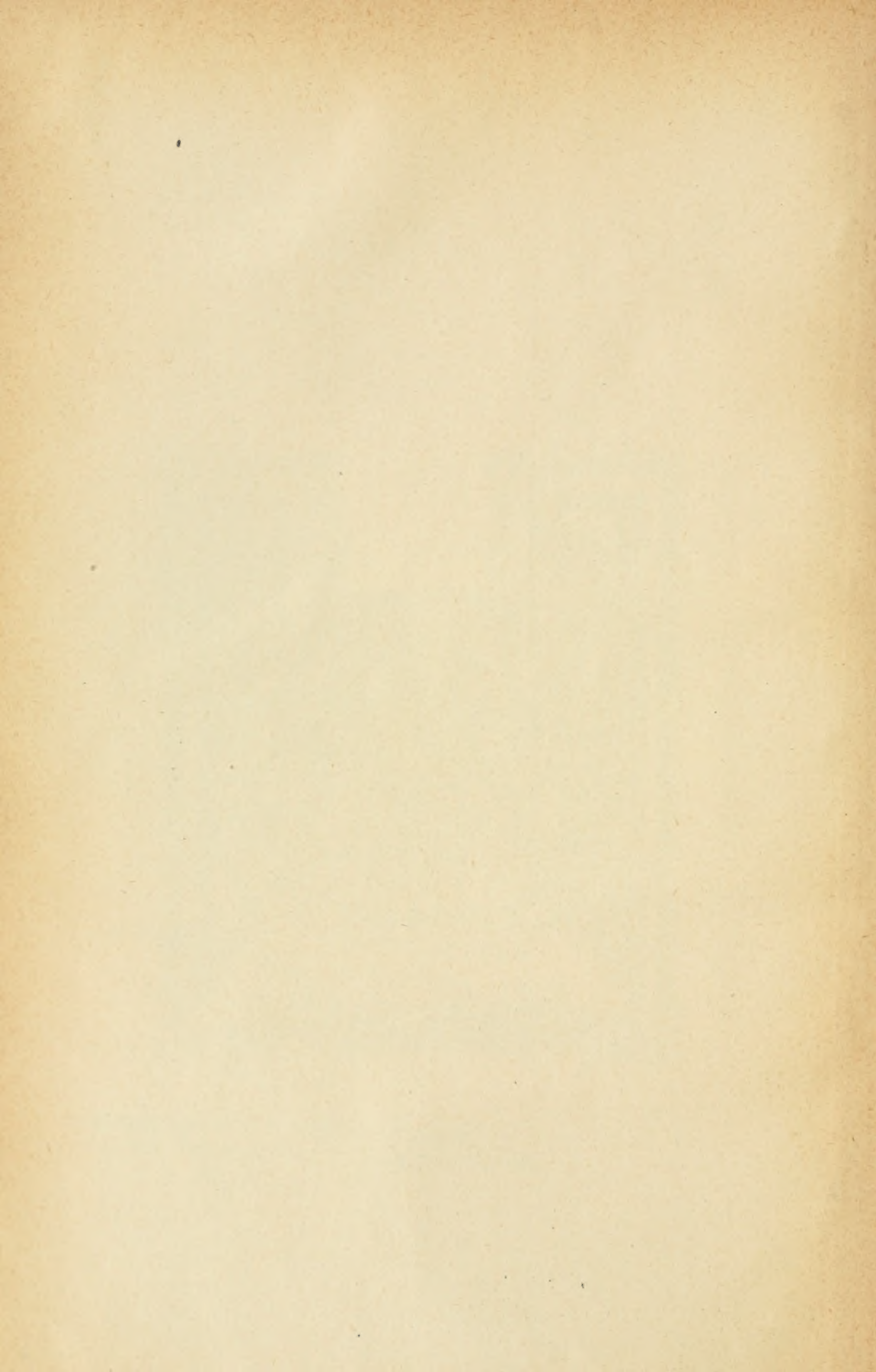



XB
E 395
PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
PURCHASED 1923 FROM
GENEVA BOTANICAL GARDEN
Septemb 1899
R. W. Gibson. Invt



Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Elfter Band.

Mit vierzehn Tafeln.

Breslau 1912.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

Inhalt des elften Bandes.

Register zum elften Bande.

Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Elfter Band. Erstes Heft.
Mit sechs Tafeln.

Breslau 1912.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).

Inhalt des ersten Heftes.



Neue Untersuchungen über Regenerationsvorgänge bei Pflanzen.

Von **Bruno Kabus.**

Die seit uralter Zeit bekannte und geübte Kunst der Gärtner, die vegetative Fortpflanzung von zufällig aufgetretenen Rassen und Varietäten von Holzpflanzen in der Weise zu bewirken, daß Augen oder Zweige auf eine Unterlage aufgesetzt und diese dadurch „veredelt" wird, ist von besonderem theoretischen Interesse.

Die sich zunächst ergebenden Fragen nach dem gegenseitigen Einfluß von Unterlage und Pfropfreis wurden in einer ausgedehnten Literatur behandelt. Sie haben die größte praktische Bedeutung, weil die Erhaltung des Typs der fortzupflanzenden Rasse oder Varietät von der Frage abhängig sein kann, ob die Eigenschaften des Pfropfreises nicht vielleicht in der einen oder andern Weise durch die Unterlage verändert werden.

Mit den Vorgängen dagegen, welche die Verbindung von Pfropfreis und Unterlage bewirken, hat man sich etwas weniger beschäftigt. Immerhin ist auch darüber, insbesondere nachdem das grundlegende Werk von H. Vöchting[1]) erschienen war, wie die im folgenden darzustellende und kritisch zu würdigende Literatur beweist, mehrfach gearbeitet worden. Doch bezogen sich die Ausführungen meiner Vorgänger auf diesem Arbeitsgebiet wesentlich auf die Darstellung der anatomischen Verhältnisse, wie sie bei der Vereinigung verschiedenartiger Gewebe zutage treten, während die korrelativen Einflüsse, die ohne Zweifel bei den darzustellenden Regenerationsvorgängen von allerhöchster, ja geradezu bestimmender Bedeutung sind, bisher überhaupt noch nicht untersucht wurden.

Dies kam daher, daß die gärtnerische Technik der Veredelung die Aufpflanzung einer Vegetationsspitze als Zweck im Auge hatte. Denn die Erhaltung einer solchen mit der Gesamtheit ihrer potentiellen Eigenschaften war ja Zweck der gesamten Manipulation. An-

---

[1]) Hermann Vöchting, Über Transplantation am Pflanzenkörper. Tübingen 1892.

schließend wurden dann von den Botanikern die bei der Vereinigung von Unterlage und Pfropfreis auftretenden anatomischen Verhältnisse untersucht.

Durch Herrn Professor Mez wurde ich darauf hingewiesen, die wichtige Frage zu studieren, ob bei Transplantationen eine Vegetationsspitze (Knospe) an dem aufzusetzenden Teil für das Gelingen der Operation nicht vielleicht bestimmende Bedeutung habe.

Es handelt sich also bei meiner Untersuchung wesentlich um die Frage, ob die bei der Veredelung der Pflanze auftretenden Erscheinungen nichts anderes seien als Spezialfälle des Wundverschlusses, oder ob das Anwachsen des Edelreises von der Knospe derart abhängig sei, daß dies Anwachsen durch von jener ausgehende korrelative Reize bedingt werde.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Carl Mez, für die mannigfache Anregung und Unterstützung bei meiner Arbeit meinen Dank auszusprechen.

Um die Ergebnisse meiner Untersuchung gleich anzuführen, habe ich gefunden, daß die Frage nach dem korrelativen Einfluß des Auges für das Anwachsen des Reises auf die Unterlage keine eindeutige Lösung zuläßt.

Bei allen untersuchten oberirdischen, mit deutlich ausgeprägtem Geotropismus versehenen Organen war das Vorhandensein einer Knospe an dem aufzupflanzenden Stück absolute Notwendigkeit. Dies ist nicht so zu verstehen, daß dies Stück selbst die Knospe enthalten mußte: es genügte für das Anwachsen, daß bei der Operation dem knospenlosen Reis eine fremde Knospe aufgesetzt wurde. In diesem Falle wuchs die Knospe vielfach an dem an sich knospenlosen Reis, dieses der Unterlage prompt an. Unter Umständen kann die Knospe auch durch anderes embryonales Gewebe (außer Wundkallus), z. B. durch ein junges Blatt, mit Erfolg vertreten werden. Der bestimmende Einfluß embryonaler Gewebe auf das Anwachsen der Reiser ist dementsprechend bei oberirdischen Stammorganen unverkennbar.

Bei unterirdischen Reservestoffbehältern ohne ausgeprägten Geotropismus waren Augen für das Eintreten der regenerativen Verwachsung zwischen Reis und Unterlage nicht notwendig. Hier trat die Vereinigung auch augenloser Stücke ein. — Nebenbei wurde, speziell an der Kartoffel, auch die Anatomie des Verwachsungsvorganges aufs genaueste studiert und dabei manche nicht unwichtige, von den Angaben meiner Vorgänger abweichende Ergebnisse gefunden.

I. Regenerationsvorgänge bei unterirdischen Speicherorganen.

a) Kartoffel, Solanum tuberosum.

Merkwürdigerweise ist die Frage, ob bei der Kartoffel zur Vereinigung getrennter Teile führende Regenerationsvorgänge überhaupt von Erfolg sein können, heute noch strittig. Taylor[1]), Magnus[2]), Lindemuth[3]) und Laurent[4]) haben sich mit dieser Frage nicht ausdrücklich beschäftigt, sondern die Erzeugung von Pfropfbastarden bei ihren Versuchen im Auge gehabt. Damit setzen sie offenbar die Verwachsungsmöglichkeit der Gewebe der Vegetationsspitze (Augen) voraus, lassen dagegen die Frage, ob auch das Grundgewebe des Speicherorgans verwachsungsfähig sei, ununtersucht und unentschieden.

Figdor[5]) dagegen hat seine Untersuchungen speziell mit der Absicht angestellt, die anatomischen Verhältnisse bei der Regeneration zu studieren. Nur mit seinen Untersuchungen, deren Thema dem der meinigen teilweise nahe steht, kann ein Vergleich meiner Ergebnisse möglich sein.

Die Untersuchungsmethode Figdors war folgende: Kartoffelknollen wurden mit Hilfe eines scharfen Messers in zwei Teile geschnitten und die Teile entweder entsprechenden anderer Kartoffeln mit gleicher Schnittfläche zusammengepaßt oder selbst von derselben Kartoffel wieder aneinandergelegt. Die Wundränder wurden mit Baumwachs verschlossen und die so operierten Knollen alsdann in Sand oder Erde gelegt.

Die Ergebnisse der Untersuchung Figdors, welche ohne Berücksichtigung der Frage nach dem Einfluß der Augen mit beiderseits solche enthaltenden Kartoffelstücken angestellt wurden, sind kurz folgende:

---

[1]) Erwähnt von F. Hildebrand in: Über weitere in England gemachte Beobachtungen an Kartoffelhybriden. Bot. Zeitung 1869, 27. Jahrg. No. 22, S. 355.

[2]) Sitzungsberichte des botanischen Vereins für die Provinz Brandenburg vom 30. Oktober 1874.

[3]) H. Lindemuth, Vegetative Bastarderzeugung durch Pfropfung. Thieles Landwirtschaftliche Jahrbücher, Berlin 1878, Heft 6.

[4]) Émile Laurent, Nouvelles expériences sur la greffe de la pomme de terre. Bulletin de la société royale de Botanique de Belgique. Bruxelles 1900, T. XXXIX.

[5]) W. Figdor, Experimentelle und histologische Studien über die Erscheinung der Verwachsung im Pflanzenreich. Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften; Mathematisch-Naturwissenschaftl. Klasse, Band 100. Wien 1891.

1. Nach dem Aufeinanderlegen der Schnittflächen werden von den intakten, durch den Schnitt nicht getroffenen Zellen durch Vorwölbung Papillen gebildet, die sich miteinander verzahnen und dadurch die Anfänge der definitiven Verwachsung bilden.

2. Wände, Protoplasma und Stärke der durch den Schnitt getroffenen und getöteten Zellen werden vollständig resorbiert.

3. Trotzdem kommt keine definitive Verwachsung zustande, da von den Schnitträndern aus obligatorisch Korkbildung auftrete und die verzahnten Papillen abschneide, so daß als Endresultat nur eine Verklebung der zusammengebrachten Stücke, nicht aber eine wirkliche Verwachsung eintrete.

Da das letztbezeichnete Ergebnis der Studien Figdors mit meinen Resultaten nicht stimmte, war es notwendig, die gesamten Untersuchungen über den Verwachsungsprozeß der Kartoffel unter verschiedenen Bedingungen zu wiederholen.

§ 1. Ursache und Verlauf der Korkbildung.

Lindemuth, der als erster die Vereinigungsflächen der gepfropften Knollen mikroskopisch untersuchte, hat auch schon das Vorkommen des Korkes konstatiert[1]). „Die Wände der Schnittfläche sind mehr oder weniger stark verkorkt und schließen so fest aufeinander, daß . . . Hohlräume niemals vorhanden sind. An einigen Punkten, meist in der Cambialzone, . . . verschwinden die Korkwandungen.“

Das Auftreten des Korkes an der Wundfläche sieht Lindemuth als etwas selbstverständliches an, das beim Kartoffelpfropfen stets auftreten muß. Daher sucht er auch nach keiner Erklärung dafür, stellt überhaupt keinen Versuch an, der über die Gründe für das Vorkommen des Korkes Aufschluß geben könnte.

Von den Angaben Lindemuths weichen die Ergebnisse Figdors ab. Dieser hat gefunden, daß zunächst eine Verwachsung der beiden Knollenhälften eintritt, die am Cambium beginnt und nach dem Mark zu fortschreitet. „Über und unter der verwachsenen Zone bildet sich dann ein Periderm aus“ [2]). Dann sah er noch, daß kurz nach der Operation Kork gebildet wurde zwischen dem normalen Periderm der Knolle und dem Gefäßbündelring, an der Stelle, wo die beiden Knollenhälften fest aneinandergesetzt waren[3]). Und der Grund dafür, daß überhaupt das nachträgliche Periderm gebildet wird, scheint ihm in dem Umstande zu suchen zu sein, daß der Kork als Schutzmittel diene „gegen eine allzustarke Transpiration, die wohl nach einiger Zeit das Zugrundegehen des ganzen Organismus veranlassen würde“ [4]).

[1]) a. a. O. S. 913/914. [2]) a. a. O. S. 197. [3]) a. a. O. S. 193. [4]) a. a. O. S. 185.

Näher eingegangen ist er hierauf indessen nicht. Doch existierten schon zu der Zeit, wo Figdor seine Studien anstellte, experimentelle Untersuchungen von Kny „Über die Bildung des Wundperiderms an Knollen in ihrer Abhängigkeit von äußeren Einflüssen“ [1]). Dieser Forscher fand:

1. „Die bei der Bildung des Wundperiderms an Knollen stattfindenden Zellteilungen werden durch einen mittleren Feuchtigkeitsgehalt der Luft am meisten begünstigt“ und

2. „Freier Sauerstoff der Luft ist nicht nur für den Beginn der bei der Bildung des Wundperiderms stattfindenden Zellteilungen, sondern auch für die Verkorkung der Membranen erforderlich“.

In dieser Arbeit ist nachgewiesen, daß äußere Einflüsse die Korkbildung begünstigen, besonders, daß der freie Sauerstoff allein schon notwendig und auch hinreichend ist, die Verkorkung zu bewirken. Damit ist aber von neuem zu untersuchen, ob die von Figdor nach der Verwachsung beobachtete Korkbildung von äußeren Einflüssen abhängt oder ob das Auftreten des Wundperiderms bei gepfropften Knollen eine unumstößliche Folgeerscheinung der stattgehabten Verwachsung ist.

Unerklärt ist ferner auch die folgende Erscheinung in der Korkbildung: Da Figdor seine Knollen an der Luft zerschnitt, Luft also stets mit den Schnittflächen in Berührung kam, und auch, was sehr wohl anzunehmen ist, zwischen den Wundflächen zurückblieb, als beide Kartoffelteile aufeinandergelegt und verbunden wurden, so ist nicht einzusehen, warum gleich nach der Operation nur zwischen Knollenperiderm und Gefäßbündel Kork gebildet wurde, während zwischen Gefäßbündel und Mark dies erst eintrat, als beide Knollenhälften verwachsen waren, also wesentlich später. Figdor erwähnt auch garnichts davon, daß er vor der Verwachsung der Kartoffeln in der letztgenannten Zone Kork hat auftreten sehen. Das berechtigt zu der Annahme, daß er nichts dergleichen beobachtet hat.

Aus den obigen Gründen sah ich mich veranlaßt, die Angaben Figdors über die Korkbildung bei der Verwachsung nachzuprüfen.

Bei meinen Versuchen gehörten die zusammengefügten Knollenteile zwei verschiedenen Kartoffeln an; die fast nie ganz genau aufeinander passenden Wundränder ließ ich stets unverklebt. Dadurch erreichte ich, daß die Luft auch nach der Operation ungehinderten Zutritt zu den Wundflächen hatte, obwohl damit die Gefahr verbunden war, daß sich Pilze ansiedelten. Die so behandelten Knollen legte ich auf ein Drahtgitter über einen tiefen, mit Wasser stets an-

---

[1]) L. Kny, Über die Bildung des Wundperiderms an Knollen in ihrer Abhängigkeit von äußeren Einflüssen. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft, Band 7, 1889.

gefüllten Teller, auf dessen Rand ich eine Glocke stellte. Das Ganze stand auf einem Regal im Laboratorium bei einer täglichen Durchschnittstemperatur von + 18° C. Bei ungefähr 160 Versuchen habe ich folgendes beobachtet:

Die ersten Knollen untersuchte ich 10 Tage nach der Operation. Die Rasiermesserschnitte wurden in Sudan-Glyzerin gekocht und unter der Wasserleitung abgespült. Durch dieses Reagenz erschienen alle verkorkten Gewebepartieen rot. Die Färbung fand sich zwischen dem Knollenperiderm und Gefäßbündel ohne Unterbrechung, aber sie war auch, wenn auch nur auf einzelne Stellen beschränkt, zwischen Gefäßbündel und Mark nachweisbar, ohne daß die Wundflächen verwachsen waren. Und untersuchte ich noch später, manchmal erst nach 20, ja nach 37 Tagen, so war, wenn die Knollen nicht zusammengewachsen waren, die ganze Wundfläche ohne Unterbrechung verkorkt.

Bei verwachsenen Kartoffeln dagegen trat der Kork stets nur lokal auf. An mehreren Präparaten von verwachsenen Kartoffeln konnte ich konstatieren, daß der Wundkork allein durch das Hinzutreten der Luft bedingt wurde. Ich sah nämlich um eine größere, inhaltsleere Lücke herum ein von beiden Knollenhälften gebildetes, lückenlos aneinander schließendes Korkgewebe, während auf beiden Seiten dieser Korkinsel die Gewebe der Kartoffeln ineinander übergingen.



Fig. 1.
Verkorkte Zellen um eine Luftblase (L). Das Ganze eingeschlossen von lebendem Verwachsungs-Gewebe. (Vergr. 170.)

Das ist eben nur so zu erklären, daß beim Zusammenbinden die zwischen den Wundflächen befindliche Luft zum Teil herausgepreßt und um die zurückbleibenden Luftblasen von beiden Kartoffelhälften gleichzeitig ein Wundperiderm abgesondert werden.

Vorausgesetzt, daß die Korkbildung an den Wundflächen eine Folge des Luftzutrittes ist, müßte sie bei unter Wasser erfolgter Operation ausbleiben. Der Versuch bestätigt diese Annahme.

In physiologischer Kochsalzlösung, für die ich das Wasser aufgekocht hatte, um den Luftgehalt möglichst zu verringern, zerschnitt ich mehrere Kartoffeln, band die beiden Teile jeweils derselben Knolle zusammen und ließ sie in der physiologischen Kochsalzlösung liegen. Als ich nach fünf Tagen die ersten Kartoffeln untersuchte, fand ich nirgends Korkbildung. Der Rest war nach weiteren sechs Tagen verfault und für die mikroskopische Untersuchung unbrauchbar. Makroskopisch konnte ich keine Spur von Wundkork entdecken.

Dieser Versuch war aber nicht beweisend; denn an sich war seine Dauer allzu kurz, und ferner konnte durch die (die Fäulnis bewirkenden) Bakterien das Ergebnis verändert sein. Ich mußte danach trachten, die Kartoffeln unter Wasser zwar zu schneiden und zusammenzubinden, dann jedoch die Wundränder so abzudichten, daß ich die operierten Knollen an die Luft bringen konnte, ohne befürchten zu müssen, daß Luft zwischen die Wundflächen trat. Dies suchte ich mit verschiedenen Hilfsmitteln zu erreichen. Knetgummi, Leukoplast auf Cretonne (der von Ärzten benutzt wird), auch Guttaperchapapier erwiesen sich als ganz unbrauchbar, weil sie sich unter Wasser nicht dicht anlegen ließen. Zement wiederum drang zu tief zwischen die Operationsflächen und bedeckte sie teilweise; Gips konnte nur an der Luft auf die Wundränder getan werden. Watte dagegen unter Wasser herumgelegt und an der Luft mit Gips überkleidet, schien anfangs brauchbar zu sein. Doch ist auch dieser Verschluß nicht immer verläßlich, da der Gips stets platzte und dann die für die Luft poröse Watte freilegte. Schließlich streifte ich über die Wundränder ein 1 bis 2 cm breites Stück eines Gummischlauches, den ich an beiden Seiten unter Wasser noch mit Vaseline abdichtete (Vaseline allein hielt nicht). Allein auch dieses Verfahren hat sich nicht bei jeder Kartoffel bewährt. Erst als ich mit Hilfe eines Korkbohrers Zylinder von 1,5 cm Durchmesser aus Kartoffeln herausbohrte und über die Wundränder unter Wasser ein eng anschließendes Schlauchstück zog, war der Verschluß für die Luft undurchlässig. Und hier ergab sich einwandfrei, was nach den Knyschen Versuchen zu vermuten war: Niemals war Kork an den Wundflächen gebildet worden, selbst wenn eine Verwachsung stattgefunden hatte.

Damit ist die Ansicht Figdors widerlegt, daß bei der Kartoffel

„eine Verwachsung mit darauffolgender Peridermbildung“ [1]) eintritt. Die Wundkorkbildung ist keine Folgeerscheinung der Verwachsung. Sie ist lediglich durch Berührung der Operationsflächen mit der Luft hervorgerufen.

Bezüglich der Bedingungen, unter denen bei der Kartoffel Wundkork entsteht, muß ich mich den Ansichten von Kny [2]), Frank [3]), Küster [4]) und Olufsen [5]) anschließen. „Der Sauerstoffzutritt ist eine unerläßliche Bedingung für das Zustandekommen und Verkorken eines Wundperiderms“, sagt der letztere. Wenn er unter Wasser dennoch die Bildung von Wundkork beobachtet haben will [6]), so ist das nur dadurch zu erklären, daß er zu seinen Versuchen nicht aufgekochtes Wasser, sondern Leitungswasser verwendet hat. Die in diesem stets vorhandene Luft hat den Fehler bei seinen Untersuchungen herbeigeführt. Olufsen sagt selber auf Seite 296 der zitierten Arbeit, daß er „O-reiches Wasser“ verwendet habe; Sauerstoff ist aber nach den von mir bestätigten Ergebnissen Knys notwendig zur Peridermbildung.

Dagegen kann ich der Meinung von O. Appel nicht zustimmen, daß der Wundreiz zunächst zur Korkbildung in den nächsten Zellen anregt, und zwar von außen nach innen fortschreitend [7]). Denn bei den vorher erwähnten Versuchen mit Kartoffelzylindern ist der Wundreiz unzweifelhaft vorhanden gewesen, dagegen fehlte die Luft an der Wundfläche: die Korkbildung unterblieb. Also auch nicht einmal in den allernächsten Zellen bedingt die gesetzte Wunde die Peridermbildung.

Bezüglich der histologischen Zusammensetzung des Wundkorkes kann ich mich sehr kurz fassen, da sie schon von E. Küster [8]) angegeben worden ist. Charakteristisch ist, daß die Zellen des Wundkorkes größer sind als die des Periderms. (Fig. 2.) Die Zellwände sind stets dünn und oft gefaltet; die Zellen selber sind reihenweise geordnet und schließen unmittelbar an die äußeren Korkschichten an.

Wie wir gesehen haben, entwickelt sich der Wundkork infolge der bei der Verwundung an die Operationsfläche gekommenen Luft. Nicht verkorken die Reste der durchschnittenen Zellwände, die von den Kartoffeln gewöhnlich aufgegeben werden und sich umbiegen.

---

[1]) a. a. O. S. 199. [2]) a. a. O.

[3]) A. B. Frank, Die Krankheiten der Pflanzen. Breslau 1894, S. 61 u. f.

[4]) E. Küster, Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1903.

[5]) L. Olufsen, Untersuchungen über Wundperidermbildung an Kartoffelknollen. Beihefte zum botanischen Zentralblatt Bd. XV, Heft 2. Jena 1903.

[6]) a. a. O. S. 296—299.

[7]) O. Appel, Zur Kenntnis des Wundverschlusses bei den Kartoffeln. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft Bd. XXIV, 1906, S. 122.

[8]) a. a. O. S. 186.

Nur selten sah ich einen geringen Teil davon verkorkt. (Fig. 3.) Dagegen verkorken oft schon die direkt unter der Wundfläche liegenden Zellwände der lebenden Zellen. Währenddessen erfolgt in den tiefer-



Fig. 2.
Korkeinschluß an der Verwachsungsstelle. (Vergr. 60.)

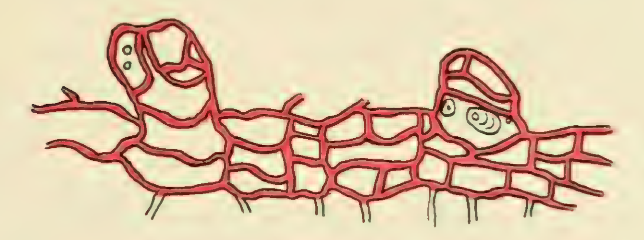


Fig. 3.
Verkorkte Papillen und Zellwände an der Wundfläche einer nicht verwachsenen Kartoffel. (Vergr. 60.)

liegenden Zellen eine Reihe von Teilungen parallel zur Wundfläche, wodurch der Wundkork vermehrt wird. Doch ist es nicht notwendig, daß die „Initialzelle", wie Olufsen die peridermbildende Zelle nennt[1]), sich immer an die Operationsfläche anschließt. Zwischen Initialzelle und Wundfläche können unter Umständen sogar zwei Zellen liegen, die ohne irgend einen erkennbaren Grund von der Knolle aufgegeben werden.

§ 2. Die infolge der Verwundung an der Schnittfläche auftretenden, mikroskopisch sichtbaren Ergebnisse des Wundreizes.

1. Untersuchung an der Luft geschnittener Kartoffeln.

Als erster hat Olufsen die Frage untersucht, welche direkte Einwirkung die Verwundung als solche, respektive der durch sie ge-

---

[1]) A. a. O. S. 281.

setzte Reiz auf die Zellen der Schnittflächen ausübe. Abgesehen wurde dabei natürlich von den durch den Schnitt mechanisch zerstörten Zellen. Olufsen fand, daß die in den dem Schnitt angrenzenden Zellen vorhandene Stärke aufgelöst werde und von der Schnittfläche weg in tiefere Gewebe wandere [1]). Gleichzeitig mit dem Abschmelzen der Stärke gehe in der ersten intakt gebliebenen Zellreihe die Bildung des Meristems für den Wundkork vor sich. Olufsen sieht die Funktion dieser Stärkewanderung darin, daß die Stärke aus den später durch den Wundkork abgeschnittenen Gewebepartieen zurückgerettet werde [2]).

Appel schließt sich bezüglich der tatsächlichen Aufnahme durchaus an Olufsen an, ist aber der Meinung, daß die aufgelöste Stärke nicht verlagert, sondern an Ort und Stelle zur Bildung der Korkmembranen verbraucht werde [3]).

Nach beiden Autoren muß mit dem Abschmelzen der Stärke Zucker in größeren Quantitäten in den Zellen entstehen, wobei zugleich infolge Verschwindens der stark lichtbrechenden Stärkekörner in den Präparaten eine durchsichtige Zone längs der Schnittfläche entsteht. Tatsächlich läßt sich auch die Umlagerung der Stärke in reduzierenden Zucker und das Auftreten von großen Quantitäten dieses längs der Schnittfläche mit Fehlingscher Lösung leicht nachweisen.

Unter Anwendung dieser Reaktion hat weiter Friedrich [4]) die Verletzungsstellen an Kartoffeln untersucht und ist dabei zu dem von Olufsen und Appel durchaus abweichenden Ergebnis gelangt, daß die ersten am Schnitt selbst belegenen Zellreihen keine Auflösung der Stärke erkennen lassen, daß dagegen eine solche tiefer im Gewebe auftrete. „In einiger Entfernung von der Wundfläche (zirka vier Zellreihen entfernt) befand sich eine ihr parallele Zone (Breite zirka drei Zellen), die nach dem Kochen mit Fehlingscher Lösung einen roten Niederschlag zeigte“ [5]). Alle hier zitierten Autoren, insbesondere Friedrich, sehen in der geschilderten Stoffumsetzung eine Reaktion auf den Wundreiz.

Die Ergebnisse dieser Darstellungen weichen bedeutend voneinander ab, und zwar auch in theoretischer Beziehung: nach Olufsen und Appel würde der Reiz an der gereizten Stelle zur Auslösung kommen, nach Friedrich dagegen weiter nach Innen geleitet werden, sodaß nach diesem Autor Reizperzeption und Reizreaktion verschiedenen Sitz hätten. Es wird unten gezeigt werden, daß die Wachstums-

---

[1]) A. a. O. S. 286—287. [2]) A. a. O. S. 286. [3]) A. a. O. S. 122.

[4]) R. Friedrich, Über die Stoffwechselvorgänge infolge der Verletzung von Pflanzen. Halle a. S. 1908.

[5]) a. a. O. S. 16.

vorgänge, welche gleichfalls Reizreaktionen darstellen, an der Schnittfläche stattfinden. Die Umwandlung von Stärke in Zucker würde dementsprechend verschieden von der anderen hauptsächlichen Reizreaktion verlaufen.

Dieses ist tatsächlich nicht der Fall. Es wird unten gezeigt werden, daß der chemische Vorgang der Stärkeverzuckerung nicht auf den Wundreiz hin, wie alle bisher darüber handelnden Autoren meinen, stattfindet, sondern auf dem Reiz der die Wunde treffenden Luft beruht. Dies wird durch Operation unter Wasser bewiesen. Aber auch bei Operation an der Luft zeigt sich, daß Friedrichs Darstellung nicht zu Recht besteht.

Meine vielen Untersuchungen über diesen Punkt beziehen sich auf an der Luft operierte Kartoffeln, bei denen die Korkbildung von den ersten Stadien bis zur Vollendung an der Schnittfläche auftrat. Hierbei ergab sich zeitlich aufeinanderfolgend:

1. Kurze Zeit nach der Verwundung (nach ca. 2 Tagen) sind die Initialzellen der Korkbildung bereits sichtbar, die aus der ersten Lage der unverletzten Zellen entstehen. Diese Initialzellen enthalten, ebenso wie die zunächst darunterliegende, also zweite intakte Zellreihe, Stärke und Zucker. Auch die durch den Schnitt zerstörten Zellen enthalten sowohl Stärke wie Zucker.

2. Nach ca. 4 Tagen ist die Verkorkung bereits mit Hilfe von Sudan-Glyzerin klar nachweisbar. In diesem Stadium ist in den durch den Schnitt zerstörten Zellen weder Stärke noch Zucker nachweisbar, die korkbildenden Zellen enthalten Zucker, dagegen keine Stärke mehr, die beiden nächsten Zellreihen Stärke und Zucker.

3. Nach weiteren 3 Tagen ist der Zucker bis auf Spuren aus den korkbildenden Zellen verschwunden und zugleich fast alle Stärke in den darunter liegenden Zelllagen aufgelöst. Die Zuckerreaktion tritt hier außerordentlich stark auf.

4. Im weiteren Verlauf verbreitet sich die Zone der zuckerführenden Zellen nach Innen fortschreitend immer mehr, bis sie die von Olufsen und Appel angegebene Breite erhält.

Nach diesen meinen Untersuchungsergebnissen muß ich mich den Angaben von Olufsen und Appel in jeder Beziehung anschließen, dagegen diejenigen von Friedrich für unrichtig erklären. Dementsprechend finden Reizreaktion, Reizperzeption und Verzuckerung der Stärke an derselben Stelle statt, nämlich an der Schnittfläche selbst.

Die Untersuchungen meiner Vorgänger ergänze ich dahin, daß etwa an die Schnittfläche heranreichende Gefäßbündel bei Anwendung der Zuckerreaktion weithin den roten Niederschlag der Kupferoxydulkörnchen zeigen. Damit wird einerseits die Ableitung des gebildeten Zuckers von der Schnittfläche weg handgreiflich bewiesen, anderer-

seits zeigt das oben angemerkte Vorhandensein reichlichen Zuckers in den verkorkenden Zellen, das beinahe vollständige Fehlen desselben in den verkorkten Zellen, daß sowohl Olufsen wie Appel Recht haben: daß also der Zucker von der Schnittfläche aus sowohl teilweise abgeführt als auch teilweise zur Neubildung verwendet wird. Dies Verhalten darf zugleich als das von vornherein wahrscheinlichste bezeichnet werden.

In meinen Präparaten ließ sich aber erkennen, daß auch bei an der Luft operierten Kartoffeln keineswegs immer die völlige Zurückziehung der Stärke aus den zerstörten Zellen gelang. Vielfach blieben außerhalb der Verkorkungsschicht noch Stärkekörner liegen, deren Substanz damit aufgegeben wurde (Fig. 3). Dies hing mit der nach unbekannten Bedingungen wechselnden Geschwindigkeit der Korkbildung zusammen.

Daß die Lösung der Stärke nicht durch den lebenden Zellinhalt bewirkt wird, wie Boehm[1]) will, sondern daß stets die fermentative Wirkung der Diastase auch in diesem Falle in Frage kommt, haben Arthur Meyer[2]) und Choslowski[3]) bewiesen. Die Anschauung Boehms, welcher durch die exzessive Atmung der Kartoffel nach Verwundungen beweisen wollte, daß Kohlehydrat, infolge des Wundreizes vom Protoplasten gelöst, direkt veratmet würde, basiert auf unter Wasser, also mit Luftausschluß, gesetzten Verwundungen. Es wird gleich zu zeigen sein, daß bei völligem Abschluß der Luft von der Wundfläche die gesamten Stoffumlagerungen in den der Wunde benachbarten Zellen, insbesondere die Verzuckerung der darin enthaltenen Stärke, völlig unterbleiben und daß wir bei Würdigung aller Versuchsergebnisse schließlich wesentlich zu der Ansicht Appels kommen, daß die Korkbildung an der der Luft ausgesetzten Schnittfläche die Reaktion auf den beim Eindringen der Luft in die Wunde stattfindenden Reiz ist, daß die Verzuckerung der Stärke dagegen erst hierdurch angeregt wird und, soweit der Zucker nicht abgeführt wird, wesentlich dem Aufbau der neuen Membranen dient.

2. Untersuchung unter Wasser geschnittener Kartoffeln.

Daß Friedrich, welcher in der Verzuckerung der in der Nähe der Wundfläche befindlichen Stärke einen hauptsächlichsten Ausdruck des Wundreizes sieht, durchaus Unrecht hat, geht daraus hervor, daß die bezeichnete Stoffumlagerung bei unter Wasser geschnittenen Ob-

---

[1]) I. Boehm, Respiration der Kartoffeln. Botanisches Centralblatt, Band L, Nr. 7, Jahrgang XIII, 1892. Nr. 20.

[2]) Arthur Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner. Jena 1895. S. 228.

[3]) Janusz v. Choslowski, Die Kartoffelpflanze. Dissertation Rostock 1906. S. 36 u. f.

jekten, also bei Luftabschluß, vollkommen ausbleibt. Wie später darzustellen sein wird, gelingt die zur völligen Vereinigung führende Verwachsung nur dann, wenn die Kartoffel unter Wasser operiert wurde. Bei der außerordentlich großen Zahl von derart behandelten Objekten, welche ich mikroskopisch untersucht habe, konnte nirgends auch nur eine Andeutung der den Schnitträndern entlang laufenden und die Verzuckerung der Stärke bezeichnenden durchsichtigen Zonen gesehen werden. Nur die in den zerschnittenen Zellen selbst enthaltenen Stärkekörner verschwanden auch in diesem Falle allmählich, jedoch nie vollständig.

Es liegt klar, daß der Wundreiz als solcher auch bei unter Wasser durchschnittenen Objekten vorhanden war, und daß allein die Einwirkung der Luft bei dieser Versuchsanordnung fehlte. Dementsprechend kann nicht der Wundreiz, sondern muß die Einwirkung der Luft den Anstoß zu der Verzuckerung der Stärke in den breiten von Olufsen, Appel und Friedrich geschilderten Zonen bilden.

§ 3. Die an der Schnittfläche beobachtete Bräunung.

Außer den vorher erwähnten Veränderungen an der Wundfläche ist noch die Bräunung derselben bemerkenswert, die schon von Lindemuth, nachher auch von Figdor beobachtet worden ist. Beide sagen, daß die Bräunung, am normalen Periderm der Knolle beginnend, sich nach innen bis in die Nähe des Cambiums fortsetze. Immer vor Erreichung des Cambiums aber werde die Wundfläche weiß, um nachher im Holzparenchym von neuem sich braun zu färben.

Auffallend ist hierbei, daß gerade das Cambium sich nicht bräunen solle, obwohl es doch unter den gleichen Verhältnissen wie die anderen Gewebe sich befindet. Eine Erklärung dieser höchst eigentümlichen Ausnahmestellung fehlt bei beiden Autoren.

Darüber, welche Gewebepartieen sich braun färben, sind sich beide auch nicht einig. Lindemuth schreibt die braune Färbung „abgestorbenen Zellelementen“ zu, d. h. Elementen aus den beim Schnitt verletzten und dann abgestorbenen Zellen. Er läßt damit die Bräunung unabhängig von der Verwachsung sich entwickeln.

Dem widerspricht Figdor. Seiner Meinung nach besteht die gebräunte „Verbindungslinie“ „aus dem zugrunde gegangenen Verwachsungsgewebe“ [1]). Er nimmt an, daß zuerst eine Verwachsung durch Papillen eintritt, daß diese durch perikline Zellteilungen an den Wundrändern zerdrückt werden und nach ihrem Zugrundegehen sich bräunen. Die Braunfärbung an der Schnittfläche sei danach eine notwendige Folge der Verwachsung. Daß sie auch ohne vor-

---

1) a. a. O. S. 197.

hergegangene Verwachsung auftreten kann, was Lindemuth annahm, verneint Figdor.

Es wäre demnach zu untersuchen gewesen:

1a. Ist die Sonderstellung des Cambiums bezüglich der Bräunung überhaupt vorhanden?

b. wodurch ist sie bedingt?

2. welche Teile der Gewebe färben sich braun?

3. wodurch ist die Bräunung dieser Partieen bedingt?

Was die erste Frage, die Sonderstellung des Cambiums bezüglich der Bräunung, betrifft, so bin ich bei meinen Versuchen zu dem Ergebnis gekommen, daß es eine derartige Ausnahmestellung gar nicht einnimmt. Sondern auch hier tritt die Bräunung ebenso auf wie an den anderen Geweben der Kartoffel. Voraussetzung ist hierbei freilich, daß sie überhaupt auftritt. Daß nämlich das Vorkommen des Farbstoffes an ganz bestimmte Bedingungen geknüpft zu sein scheint, wird weiter unten gezeigt werden. Ist jedoch die Braunfärbung vorhanden, wie es bei an der Luft operierten Knollen stets vorkommt, so kann sie überall an der Schnittfläche auftreten, sie ist nicht auf einzelne Gewebe beschränkt.

Die Gewerbepartieen aber, die sich bräunen, und damit komme ich zur zweiten Frage, sind eigentlich keine Gewebe, sondern lediglich Reste der beim Schnitt verletzten und abgestorbenen Zellen[1]), was auch Lindemuth gefunden hatte. Zwischen den beiden Wundflächen der an der Luft operierten Knollen sah ich, ebenso wie Figdor und Lindemuth, „Reste von abgestorbenen Zellen und Stärkekörnern, sodaß man niemals dazwischen . . . Hohlräume beobachten kann“[2]). Daraus glaubte Figdor jedoch unbedingt folgern zu müssen, daß hier zunächst eine Verwachsung stattgehabt hat, das Verwachsungsgewebe dann aber durch perikline Zellteilungen an den Wundrändern zerdrückt sei. Die Zellreste, die man in den Präparaten auf der Operationsfläche sieht, sollen dem vernichteten Verwachsungsgewebe angehören. Diese Ansicht ist irrig. Denn entfernt man auf Präparaten von nicht zusammengewachsenen Kartoffeln die Stärke durch Hinzutun von Kalilauge, so sieht man unter dem Mikroskop an den dicht zusammenliegenden Wundrändern noch die Zellwände der durchschnittenen Zellen einander entgegenragen, oft sich sogar derart berühren, daß man glaubt, nur eine Zelle vor sich

---

[1]) Daß die Bräunung ein Zeichen des Todes ist, hat M. I. Schleiden (Beiträge zur Anatomie der Cacteen. Mémoires présentés à l'Académie impériale des sciences de St.-Pétersbourg par divers savants. 1845. Tome IV), später Sachs (in landwirtschaftl. Versuchsstation II [1860] und Mez (Flora 1905, Bd. 94, S. 120) festgestellt.

[2]) Figdor a. a. O. S. 197.

zu haben, während es in Wirklichkeit die Reste von zwei bei der Operation durchschnittenen Zellen sind. Wie sollte sich hier Verwachsungsgewebe bilden können? Figdor mußte aber die Ansicht Lindemuths verwerfen, weil er die ganzen Zellleiber der verletzten Zellen, auch die Wandreste, von den gesunden, unverletzten Zellen resorbiert werden läßt und diese Resorption nach ihm an der Wundfläche immer, ohne Ausnahme, die Papillenbildung und damit die Verwachsung bewirkt.

Endlich bleiben noch die Bedingungen für die Bräunung zu finden übrig. Hierüber existieren nur wenige und unbestimmte Angaben bei Küster[1]). Die Berührung mit der Luft, Zerstörung der Leitungsbahnen und deren Konsequenzen oder irgend ein anderer Faktor kann seiner Meinung nach die Färbung herbeiführen.

Bei den an der Luft geschnittenen Kartoffeln konnte die Bräunung der Wundfläche stets beobachtet werden; dagegen fehlte sie sehr oft, wenn auch nicht immer, bei den unter Luftabschluß operierten Knollen; niemals war sie bei den Versuchen mit Kartoffelzylindern bemerkbar, wo allein der Luftabschluß vollkommen war. Daraus geht hervor, daß auch die Bräunung der Schnittfläche ebenso wie die Korkbildung nur durch den Luftzutritt bewirkt wird. Mit Hilfe von Guajakharzlösung konnten in den Knollen auch Oxydasen nachgewiesen werden.

Aus dem Gesagten folgt, daß nicht die Zerstörung der Leitungsbahnen oder irgend ein anderer Faktor, sondern allein die Berührung mit der Luft die Bräunung in den abgestorbenen Zellen verursacht hat.

§ 4. Die an der Schnittfläche auftretenden Regenerationsvorgänge und ihre Beziehung zur Verwachsung der Operationsstellen.

Im Jahre 1875 erregten Versuche, die zur Züchtung neuer Kartoffelsorten von Oehmichen[2]) in Jena und F. v. Gröling[2]) in Lindenberg bei Berlin angestellt worden waren, die Aufmerksamkeit weiterer Kreise. Beide entfernten aus der „Mutterknolle“, wie Oehmichen die zur Unterlage bestimmte Knolle nennt, sämtliche Augen und setzten in einen Augenauschnitt ein entsprechend großes Augenstück einer anderen Kartoffel ein. Das eingesetzte Auge wurde mit Bast befestigt und die so behandelte Knolle in den Boden gelegt.

Das Ergebnis von Oehmichen war, abgesehen von den verfaulten Knollen, daß die Mutterknolle aus übersehenen Augen oder

---

[1]) a. a. O. S. 58 u. f.

[2]) Die Kartoffel und ihre Kultur. Amtlicher Bericht über die Kartoffel-Ausstellung zu Altenburg vom 14. bis 24. Oktober 1875 und ihre Ergebnisse. Berlin 1876.

aus Adventivknospen Sprosse entwickelte, die eingesetzten Augen dagegen ausgefault waren. „Eine Verwachsung der Pfropfflächen beider Sorten hatte nie stattgefunden, sondern beide waren durch eingetretene Korkbildung an den Seitenflächen voneinander abgeschlossen.“

Einen günstigeren Erfolg hatte F. v. Gröling, der eine kleine Knolle präsentieren konnte, welche angeblich das auf die gleiche Weise gewonnene „Kreuzungsprodukt“ darstellte.

Beide Autoren wandten das gleiche Verfahren des Pfropfens an, beide haben verschiedene Ergebnisse. Selbst wenn man den Angaben v. Grölings zustimmt, ist damit noch nicht die Frage geklärt, ob zwei mit ihren Wundflächen aneinander gelegte Knollenstücke verwachsen oder nicht, da eventuell auch aus einem nicht angewachsenen Auge, wenn dasselbe genügend Reservestoffe mitbekommt, eine neue Pflanze sich entwickeln kann.

Schon Taylor[1]) gibt an, daß bei gepfropften Knollen wirklich eine Vereinigung der Rinde des eingesetzten Auges mit der der Unterlage stattgefunden habe. Eine mikroskopische Untersuchung der Wundflächen ist von ihm jedoch nicht vorgenommen worden. Auf die Verwachsung schließt er daraus, daß beide Teile eine Belastung von zwei Pfund ertrugen, ohne sich voneinander zu lösen.

Die erste genauere Untersuchung ist von Lindemuth ausgeführt worden, „um die Art der Verwachsung einer nach Möglichkeit genauen Prüfung zu unterziehen“ [2]).

An mikroskopischen Präparaten, die dieser Autor dem Gefäßring operierter Knollen entnahm, konnte er eine stattgefundene Verwachsung feststellen. „An einigen Punkten, meist in der Cambialzone, wird die braune Färbung[3]) unterbrochen, die Korkwandungen verschwinden, das lebende Zellgewebe beider Hälften zeigt sich innig verschmolzen und die Verbindungslinie vielfach von Gefäßbündelgruppen und einzelnen Spiralgefäße führenden Gefäßbündeln überbrückt“[4]).

Die wirklich eingetretene Verwachsung zweier Kartoffeln bekräftigt Lindemuth, ebenso wie Taylor, ferner durch eine lange Reihe von Zerreißungsversuchen. Die Untersuchung der auseinander gerissenen Flächen ergibt, daß sich der Bruch des Zellgewebes zuerst in der Nähe der Vegetationspunkte, mit der fortschreitenden Zeit auch im Gefäßbündelring und schließlich in Rinde und Mark zeigt. Daraus folgert er: „Alle Pfropfungen werden am erfolgreichsten bewirkt zwischen gleich großen Knollen. Bei Pfropfung ungleich großer Knollen kommt es allein darauf an, daß bei der Vereinigung die Cambial-

---

[1]) Botanische Zeitung 1869, Nr. 22. [2]) a. a. O. S. 913.

[3]) Gemeint ist die braune Färbung der Wundfläche.

[4]) a. a. O. S. 914.

zonen sich in möglichst vielen Punkten decken. Ob dabei die Schnittfläche einer oder der andern Knolle teilweise ungedeckt bleibt, ist vollkommen gleichgültig"[1]).

Wie unzuverlässig dieses Verfahren ist, darauf macht schon Figdor aufmerksam. Lindemuth gründet seine bezüglichen Folgerungen zu sehr auf den makroskopischen Befund der Objekte, während hier allein das Mikroskop entscheiden sollte.

So ist es auch zu erklären, daß wichtige Tatsachen beim Zustandekommen der Verwachsung Lindemuth entgangen sind. Gegenüber den früheren Pfropfversuchen ist bei ihm aber insofern ein Fortschritt zu konstatieren, als er eindeutig die Frage beantwortet, ob eine Verwachsung der Kartoffelhälften möglich ist.

Figdor hat die mikroskopischen Untersuchungen, die von Lindemuth begonnen waren, weiter fortgesetzt. Insbesondere hat er seine Aufmerksamkeit auf das die beiden Knollenhälften verbindende Verwachsungsgewebe gerichtet und die einzelnen Zellen und die in ihrem Innern sich abspielenden Vorgänge mit Hilfe chemischer Reagentien eingehender studiert.

Daneben hat er aber die experimentelle Seite nicht ganz vernachlässigt und glaubt „zwei allgemeine Bedingungen gefunden zu haben, unter denen allein eine Verwachsung eintreten kann.

1. Damit eine Verwachsung eintrete, muß ein kleiner Zwischenraum zwischen den verletzten Geweben liegen, so daß sich die neu auftretenden Zellen genügend entwickeln können, ohne dabei von dem normalen Gewebe beengt zu sein,

2. darf ein gewisses Maß der Transpiration nicht überschritten werden"[2]).

Außer diesen allgemeinen (sich nicht allein auf Solanum tuberosum beziehenden) Thesen muß ich noch erwähnen, daß der Autor keine Verwachsung, auch nicht den Beginn der Neubildung beobachten konnte, wenn er gepfropfte Knollen in einer Temperatur von $+4^0$ bis $+6^0$ C. liegen ließ.

Dieser Umstand und die Beobachtung, daß die Bildung des Verwachsungsgewebes am Anfang des Winters längere Zeit dauerte als zu Beginn des Frühlings, führte ihn darauf, „die Bedingungen zu ermitteln, unter denen eine dauernde Verwachsung eintreten könnte. Jedoch war mein Bemühen in dieser Richtung erfolglos"[3]).

Anknüpfend an diese Beobachtungen will ich meine eigenen folgen lassen.

---

[1]) a. a. O. S. 920.
[2]) a. a. O. S. 188.
[3]) a. a. O. S. 184.

1. Experimenteller Teil.

a. Die Versuche mit an der Luft geschnittenen Kartoffeln.

Der allgemein anerkannte Satz, daß die Vegetationspunkte als Anziehungszentren für Baustoffe wirken, je nach ihrer Lage stärker oder schwächer[1]), hat seine Begründung in den korrelativen, von den Knospen auf die fertigen Gewebe ausgeübten Einflüssen. Die Fragestellung meiner Versuche war, ob diese Korrelationen auch noch einen weiteren Ausdruck finden und sich auf das Anwachsen beziehen, ob zwei Knollenhälften zusammenwachsen, wenn sie Knospen, „Augen" haben; ob die Verwachsung unterbleibe, sobald aus beiden Hälften die Augen herausgebohrt sind.

Die Kartoffelsorten, die mir bei meinen Versuchen zur Verfügung standen, waren folgende: Juwel, Schneeflocke, Blanke I, Magnum bonum, Weltwunder (rot) und Blaue (sogenannte „Graudenzer").

Von mehreren Kartoffeln jeder Sorte entfernte ich alle Augen, durchschnitt die Knollen und band dann zwei Stücke von verschiedenen Sorten, aber mit gleich großer Schnittfläche, mit Lindenbast zusammen. Hierbei führte ich zunächst nur wenige der Kombinationen aus, die unter den sechs Sorten möglich sind.

In derselben Weise behandelte ich andere Kartoffeln, bei denen kein Auge entfernt worden war. Abweichend von Lindemuth und Figdor durchschnitt ich diese Knollen jedoch so, daß der Schnitt nie durch ein Auge hindurchging, da es mir nicht darauf ankam, aus den gepfropften Knollen „neue Sorten" zu züchten.

Die Kartoffeln dieser ersten Versuchsreihe öffnete ich nach 12 bis 14 Tagen und fand folgendes: Hatte ich Stücke mit Augen zusammengebunden, so waren alle (15) zusammengewachsen, Stücke ohne Augen (9) dagegen fielen sogleich beim Lösen des Bastes auseinander, waren also nicht zusammengewachsen.

Diesen ersten Versuch wiederholte ich sofort in größerer Ausdehnung, indem ich jetzt fast alle Kombinationen unter den sechs Sorten ausführte. So erhielt ich folgende kleine Tabelle:

	verwachsen	nicht verwachsen
1. Solanum tuberosum mit Augen verbunden mit Solanum tuberosum mit Augen	142	1
2. Solanum tuberosum ohne Augen verbunden mit Solanum tuberosum mit Augen	14	11
3. Solanum tuberosum ohne Augen verbunden mit Solanum tuberosum ohne Augen	0	20

[1]) cf. K. Goebel, Organographie der Pflanzen. I, § 4, 4.

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß tatsächlich das Zusammenwachsen zweier Kartoffeln davon abhängig zu sein scheint, ob die zusammengebundenen Knollenteile Augen haben oder nicht. Dies hatte auch schon der Vorversuch ergeben.

Unter beiderseits mit Augen versehenen Objekten befindet sich nur eins, bei dem die Verwachsung nicht eingetreten war. Diese nicht zusammengeheilte Kartoffel ist deswegen zu vernachlässigen, weil sich auf den Wundflächen Fäulniserscheinungen bemerkbar machten, die wahrscheinlich das Verwachsen verhindert hatten.

Vergleicht man 1 mit 3, so scheint es ganz evident zu sein, daß das Vorhandensein der Knospen für das Anwachsen bestimmend ist. Von den 20 augenlosen Knollen ist auch nicht eine einzige verwachsen, obwohl sie denselben Bedingungen unterlagen, wie die unter 1 erwähnten.

Nur wenn man die Zahlen betrachtet, die bei der zweiten Serie angeführt sind, tauchen leise Zweifel auf. Man muß sich fragen: Wie ist es möglich, daß ein augenloses Stück verbunden mit einem solchen mit Knospe einmal anwächst, das andere Mal nicht?

Die Erklärung, daß (bei wechselnden relativen Größenverhältnissen der beiden Komponenten) das eine Mal, wenn beide Hälften zusammenwachsen, das augenlose Stück die Unterlage, die Knolle mit Auge das Pfropfreis bildet, und daß das Umgekehrte der Fall ist, wenn beide nicht verwachsen, scheint recht unwahrscheinlich zu sein, weil die verwachsenen Knollen ebenso zahlreich sind, wie die nicht verwachsenen und ein in Größenverhältnissen bestehender Unterschied nicht zu beobachten war. Der Grund dieser Erscheinung wird später angegeben werden.

Den besprochenen Versuch variierte ich in dreifacher Beziehung: Einmal legte ich zwischen zwei Knollenhälften noch eine Scheibe einer anderen Knolle. Hierbei ergab sich folgendes Resultat.

	Scheibe auf beiden Seiten angewachsen	Scheibe einseitig angewachsen	Scheibe überhaupt nicht angewachsen
1. Sol. tub. mit Auge und Scheibe ohne " " Sol. tub. mit " . .	25	2	0
2. Sol. tub. mit Auge und Scheibe mit " " Sol. tub. mit " . .	8	0	0
3. Sol. tub. ohne Auge und Scheibe ohne " " Sol. tub. mit " . .	0	4	5
4. Sol. tub. ohne Auge und Scheibe ohne " " Sol. tub. ohne " . .	0	0	6

Das Ergebnis ist bei diesem Versuch ein ähnliches wie bei dem vorigen. Während 2 und 4 auf einen Einfluß des Auges hinweisen, ist dies Verhältnis bei 3 wieder unbestimmt.

In einer weiteren Versuchsreihe verpflanzte ich nur kleine Stücke der einen Knolle auf die andere. Fünf kleine Stücke mit Auge wuchsen ein, fünf ohne Knospe nicht.

Schließlich setzte ich in ein augenloses Kartoffelstück ein fremdes Auge und verband das Ganze mit einer anderen Kartoffel. Von fünf Augen waren drei eingewachsen, die beiden Kartoffelhälften waren dagegen stets aneinandergeheilt.

Fassen wir die Ergebnisse all dieser Versuche zusammen, so müssen wir sagen, daß sich der Einfluß des Auges bei der Verwachsung nicht eindeutig und einwandfrei nachweisen läßt.

b) Die Versuche mit unter Wasser geschnittenen Kartoffeln.

Wie ich schon früher gesagt habe, trat bei fast allen Kartoffeln an der Operationsfläche Kork auf, der die Entscheidung des Zusammengewachsenseins sehr erschwerte. Hierauf komme ich noch bei Besprechung der anatomischen Ergebnisse zurück.

Da ich annahm, daß gerade das Auftreten des Korkes die Bildung der Papillen und damit die Verwachsung der Wundfläche beschränkt habe, operierte ich die Kartoffeln von jetzt ab nur noch in physiologische Kochsalzlösung unter Luftabschluß, wodurch die Bildung des Wundperiderms verhindert und dementsprechend die der Papillen begünstigt wird.

Das Resultat dieser Versuchsanordnung war beachtenswert.

Die erste Versuchsreihe mit Kartoffeln, die ich operiert in physiologischer Kochsalzlösung liegen ließ, verfaulte, bevor eine eingehende Untersuchung angängig war.

Die übrigen weiterhin in physiologischer Kochsalzlösung operierten Knollen behandelte ich so, wie es oben bei Besprechung der Korkbildung angegeben worden ist. Es ergaben sich folgende Tabellen:

I. Untersucht nach 7 Tagen.

	zusammengewachsen	nicht zusammengewachsen
1. Sol. tub. mit Augen und Sol. tub. mit Augen	8	0
2. 〃 〃 ohne 〃 〃 〃 〃 ohne 〃	5	2
3. 〃 〃 ohne 〃 〃 〃 〃 mit 〃	6	1

II. Untersucht nach 12 Tagen.

	zusammengewachsen	nicht zusammengewachsen
1. Sol. tub. mit Augen und Sol. tub. mit Augen	9	0
2. 〃 〃 ohne 〃 〃 〃 〃 ohne 〃	6	1
3. 〃 〃 ohne 〃 〃 〃 〃 mit 〃	4	0

III. Untersucht nach 16 Tagen.

1. Sol. tub. mit Augen und Sol. tub. mit Augen	12	0
2. " " ohne " " " " ohne "	12	0
3. " " ohne " " " " mit "	8	0

IV. Untersucht nach 22 Tagen.

1. Sol. tub. mit Augen und Sol. tub. mit Augen	16	0
2. " " ohne " " " " ohne "	6	0
3. " " ohne " " " " mit "	9	0

Zusammenfassung.

1. Sol. tub. mit Augen und Sol. tub. mit Augen	45	0
2. " " ohne " " " " ohne "	29	3
3. " " ohne " " " " mit "	27	1

Was die zwei augenlosen, nicht verwachsenen Knollen in der Tabelle I. betrifft, so sind sie in einem zu frühen Stadium untersucht worden. Denn von den 12 knospenlosen Stücken in III. sind alle zusammengeheilt und ebenso bei IV. Dieselbe Erklärung trifft auch für die unter I, 3 und II, 2 erwähnten Kartoffeln zu.

Daraus ergibt sich für die Zahlen in der Zusammenfassung, daß nur die links stehenden zu berücksichtigen, die rechts dagegen zu vernachlässigen sind.

Und aus diesen Zahlen folgt wiederum, daß das endliche Zustandekommen des Zusammenwachsens zweier Kartoffeln unabhängig ist von der Knospe, weil auch knospen-, augenlose Stücke zusammenwachsen.

Mit diesem Ergebnis ist freilich erklärt, warum die an der Luft operierten Knollen das in der ersten Tabelle unter 2. angeführte Resultat zeitigen konnten. Die Unentschiedenheit in ihrem Verhalten deutete darauf hin, daß irgend welche Umstände das Zusammenwachsen verhindert haben müßten. Im anatomischen Teil wird gezeigt werden, daß allein die Korkbildung diesen Fehler verursacht hatte.

Es sind demnach die Ergebnisse, die mit an der Luft operierten Knollen erzielt worden waren, für die weitere Betrachtung von keiner Bedeutung mehr.

Weil Figdors Resultat nur auf Versuchen mit Knollen, die an der Luft geschnitten sind, beruht, so ist erwiesen, daß der von ihm bezüglich der Verwachsung der Kartoffeln aufgestellte Leitsatz, „bei der Kartoffelknolle haben wir eine Verwachsung mit darauf folgender Peridermbildung“ [1]), als falsch zu verwerfen ist.

Aus dem Vergleiche der Tabelle I und II mit III und IV geht ferner die wichtige Tatsache hervor, daß die augenlosen Stücke längere

---

[1]) a. a. O. S. 199.

Zeit zum Verwachsen gebrauchen, als die mit Augen versehenen. Wenn dann noch während dieser Zeit die Luft ungehindert zu der Operationsfläche hinzutreten und die Ausbildung des Korkgewebes bewirken kann, bevor die Vereinigung der Wundflächen durch Papillen erfolgt ist, so ist es verständlich, warum keine an der Luft operierte augenlose Knolle zusammenwachsen konnte.

Das Zusammenwachsen an sich ist nicht durch das Vorhandensein des Auges bedingt. Dies läßt sich noch auf einem andern Wege bestätigen. Aus unter Wasser operierten Knollen mit Augen entfernte ich die Knospen nach verschiedener Zeit und verstrich die Wunde mit Baumwachs. Durch Vergleich mit andern Objekten stellte ich den jeweiligen augenblicklichen Verwachsungszustand der Knollen fest, deren Augen ich entfernen wollte.

In der folgenden Tabelle ist die Kontrollkartoffel stets an dem Tage untersucht worden, an dem aus den Versuchsobjekten die Augen entfernt wurden.

	Angewachsen nach	Kontrollkartoffel
3 Sol. tub. mit entfernten Augen	21 T.	3 Tage nach der Operation nicht verwachsen
4 „ „ „ „ „	16 „	4 Tage nach der Operation nicht verwachsen
6 „ „ „ „ „	14 „	5 Tage nach der Operation nicht verwachsen
2 „ „ „ „ „	15 „	6 Tage nach der Operation nicht verwachsen
4 „ „ „ „ „	5 „	11 Tage nach der Operation verwachsen

Obwohl die ersten 15 Kartoffeln noch nicht verwachsen waren, als ich die Augen entfernte, hat das Fehlen der Knospen das Zusammenwachsen nicht verhindert, ein weiterer Beweis für die Richtigkeit obigen Satzes.

c. Dauer der Verwachsung.

Im vorliegenden Abschnitt ist darauf hingewiesen worden, daß die augenlosen Objekte längere Zeit zum Verwachsen gebrauchen als die mit Augen. Der Zeitunterschied beträgt 10 bis 16 Tage. Die Beschleunigung des Verwachsungsprozesses, die auf der Anwesenheit des Auges beruht, läßt sich auch bei den zuletzt geschilderten Versuchen nachweisen. Während in der letzten Reihe die Kontrollkartoffeln, d. h. die Knollen mit Knospen, 11 Tage nach der Operation schon verwachsen waren, konnte bei augenlosen Objekten der vorhergehenden Reihen eine Vereinigung der Schnittflächen erst wesentlich später festgestellt werden.

Wenn nun auch das endliche Zusammenwachsen der gepfropften Knollen nicht durch das Vorhandensein des Auges bedingt ist, so ist doch unzweifelhaft, daß vorhandene Knospen das Anwachsen beschleunigen.

Alle bisherigen Versuche wurden im Zimmer bei einer mittleren Temperatur von + 18° C. ausgeführt. Daß die Neubildung von Zellen und damit das Verwachsen von der Temperatur abhängig ist, hat schon Figdor gezeigt.

Seinen Versuch wiederholte ich. Die dazu bestimmten Knollen ließ ich in einer Zimmertemperatur von + 5° C. liegen, die Kontrollkartoffeln bei ungefähr + 18° C. Als ich nach 24 Tagen den Versuch beendigte, ergab sich, daß keine der Knollen, die im kalten Zimmer gelegen hatten, Papillenbildung zeigte, die Kontrollkartoffeln dagegen vollständig verwachsen waren; damit sind die Angaben Figdors bestätigt.

Fassen wir alle bisher dargestellten Versuchsergebnisse zusammen, so folgt:

Das endliche Zusammenwachsen zweier Kartoffeln ist zwar nicht durch das Vorhandensein der Knospe bedingt, es wird aber durch vorhandene Augen wesentlich beschleunigt; niedrige Temperatur vermag selbst bei Objekten mit Knospe das Verwachsen zu verhindern.

d. Die Versuche mit Kartoffelzylindern.

Fraglich ist jetzt noch, ob alle lebenden Gewebe gleichmäßig in den später darzustellenden Regenerationsvorgang eintreten, oder ob einzelne Partieen des Querschnittes dabei bevorzugt sind.

Nach den Untersuchungen von Lindemuth, denen in dieser Beziehung auch Figdor gefolgt ist, soll die Papillenbildung und damit die Verwachsung stets von vorhandenem Cambium abhängig sein. Ein solches ist, wenn auch, wie die übrigen Zellen der Gewebe als Lagerstätte für die Baustoffe benützt und deshalb nicht auf den ersten Blick kenntlich, bei der Kartoffel an der Grenze von Holzkörper und Rinde vorhanden.

Da für meine Untersuchungen die Frage nach dem Ausgangspunkt der Verwachsungen von großer Bedeutung war, habe ich zunächst die Lindemuth'schen Angaben nachgeprüft. Ich bin in der Weise vorgegangen, daß ich mit einem scharfen Korkbohrer aus großen Kartoffeln — es war besonders die Sorte Magnum bonum — 1,5 cm dicke Zylinder ausgestoßen habe. Diese enthielten nur an ihrem oberen und unteren Ende Cambium, im übrigen waren sie allein von Xylem gebildet.

Diese Zylinder ließ ich in der feuchten Kammer einige Tage an der Luft liegen, bis sie von einer kontinuierlichen Wundkorkschicht

überzogen waren, schnitt dieselben dann in verschiedener Länge durch und fügte sie wieder zusammen.

Die Operation wurde aus den früher besprochenen Gründen unter Wasser vorgenommen. Gleichfalls unter Wasser wurde ein festschließender Kautschukring über die Operationsstelle gelegt; dadurch wurde einerseits der Zutritt der Luft zu der Operationsstelle dauernd verhindert, andererseits wurden die Stücke im Zusammenhang gehalten.

Wurden die Versuchsobjekte nun wieder an die Luft unter der Glasglocke gebracht, so zeigten sie nach ca. acht Tagen, soweit nicht Fäulnis eingetreten war, vollkommenste Verwachsung ihrer Schnittflächen. *Hervorzuheben ist jedoch, daß diese nur dann eintrat, wenn eine der Schnittflächen ein Gefäßbündel getroffen hatte.*

Die feinen, durch ihre Tracheïden kenntlichen Gefäßbündel verlaufen bei der Kartoffel derart, daß mehrere büschelförmig von jedem Auge ausgehen und nach dem Zentrum der Knolle bis zu einem in einiger Entfernung im Innern des Cambiums liegenden Gefäßbündelring ausstrahlen.

Diese Gefäßbündel sind die Stellen, von denen aus die Verwachsung der Schnittflächen beginnt, während das Cambium mit der Verwachsung nichts zu tun hat. Ich habe viele Zylinder aneinandergeheilt, deren Vereinigungsflächen keine Spur von Cambium enthielten. Daß die Gefäßbündel für das Eintreten der Verwachsung bestimmend sind, geht daraus hervor, daß ich niemals eine solche gefunden habe, wenn nicht wenigstens eine Schnittfläche ein Gefäßbündel enthielt.

Damit ist die Unhaltbarkeit der Angaben *Lindemuths*, welchen auch *Figdor* folgt, bezüglich der bestimmenden Rolle, die das Cambium bei den Regenerationsvorgängen der Kartoffel spielen soll, bewiesen.

Ich weise darauf hin, daß *Vöchting*[1]) bei seinen Regenerationsversuchen mit der Runkelrübe zu dem Ergebnisse gekommen war, daß die Papillenbildung und überhaupt das Zusammenwachsen getrennt gewesener Teile nur abhängig ist von dem Vorhandensein teilungsfähigen Gewebes. Dies stimmt mit meinen später darzustellenden Regenerationsversuchen bei Tradescantia vollkommen überein, wo das ganze Grundgewebe die Fähigkeit der Papillenbildung und damit die der Verwachsung besitzt. Auch bei der Kartoffel sind alle Parenchymzellen an sich verwachsungsfähig. Der Anstoß zur Papillenbildung und damit zur Regeneration geht aber bei der Kartoffel stets von einem Gefäßbündel aus; ist ein solches im Schnitt nicht vorhanden, so verwachsen die an sich teilungsfähigen Zellen des Grundgewebes nicht.

---

[1]) a. a. O. S. 82.

2. Anatomisch-histologischer Teil.

a. Die Papillen, ihre Entstehung und die Verwachsung der Operationsstelle.

Die Art und Weise, in welcher die Vereinigung von Pfropfreis und Unterlage erfolgt, wurde von Vöchting zuerst bei der Runkelrübe, Beta vulgaris, beobachtet. Die Übereinstimmung der bei der Kartoffel eintretenden Regenerationsverhältnisse mit jenen hat bereits Figdor konstatiert.

Betrachtet man die Operationsflächen von zwei verwachsenen Kartoffeln unter dem Mikroskop, so sieht man, daß die Verwachsung durch papillenartige Zellen bewirkt wird, die gegeneinander vorgewachsen sind (Fig. 4). Die Papillen entstehen in der Weise, daß

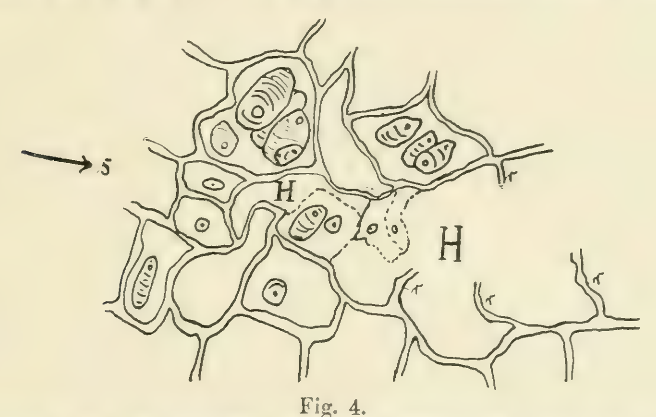


Fig. 4.
Papillenbildung an der Wundfläche von zwei verwachsenen Kartoffeln. H. Hohlraum; r. Wandreste von durchschnittenen Zellen. (Vergr. 60.)

einzelne der unverletzt gebliebenen Zellen, welche der Schnittfläche direkt anliegen, ihre Wände vorwölben. Dann tritt weitere Streckung und auch Teilung der vorgewölbten Zellen ein; sobald die Papillen sich berühren, beginnen sich ihre anfangs gerundeten Oberflächen infolge des gegenseitigen Druckes abzuplatten und an der Berührungsstelle zu verwachsen. Derartige herangewachsene Papillen bestehen gewöhnlich aus mehreren Zellen; sie schließen sich in ihrem Wachstum den vorhandenen Unebenheiten der Schnitte an und haben oft verbogene und sonderbare Gestalt. Das Ergebnis des Wachstums ist zunächst eine innige Verzahnung der neu entstandenen Papillengewebe an den Schnittflächen.

Es ist bekannt, daß diese Verhältnisse auch schon von Hanstein[1]) beobachtet und das Regenerationsgewebe als „Blastogen"

[1]) Hanstein, Beiträge zur allgemeinen Morphologie der Pflanzen. Bot. Abhandlungen, Bonn 1892, Bd. 4. Wehrverfahren gegen Verwundungen und Verstümmlungen, S. 136.

bezeichnet worden sind; der Hinweis Vöchtings[1]) (er nennt die Papillen direkt „haarartige Bildungen") auf die Analogie mit Haaren liegt auf der Hand. In dem Gewebe, welches die Vereinigung zweier Wundränder bewirkt, haben wir eine genaue Analogie der Gewebe, welche die Fruchtfächer z. B. der Citrus-Arten erfüllen.

Aus dem Gesagten folgt, daß man nur dann von einer „Verwachsung" reden darf, wenn an den Operationsflächen von Reis und Unterlage Papillen vorhanden sind und sich diese nicht nur berühren, sondern auch dauernd verzahnen. Dagegen ist keine Verwachsung eingetreten, wenn die Papillen sich nicht berühren oder in jugendlichem Stadium verkorkt oder überhaupt nicht vorhanden sind. Sämtliche drei Fälle kommen bei Solanum tuberosum vor.

Beginnen wir mit dem letzten Fall, so war schon früher darauf hingewiesen worden, daß an der Luft operierte Knollen auf den Wundflächen Kork bilden. Sind mehrere der Wundfläche parallele Zellwände verkorkt, was oft in wenigen Tagen erfolgt, so ist den darunter liegenden Zellen die Möglichkeit genommen, Papillen auszubilden und die Verwachsung einzuleiten. Das Korkgewebe bildet bald einen festen, panzerartigen Abschluß der inneren Zellen nach außen hin.

Hierauf und auf den Umstand, daß die augenlosen Stücke etwas langsamer anwachsen als die mit Augen (vgl. Tabelle I bis IV der unter Wasser operierten Kartoffeln), ist es in letzter Linie zurückzuführen, daß keine der an der Luft operierten Knollen ohne Knospe jener Tabelle verwachsen war.

Geht dagegen die Peridermbildung an der Schnittfläche nur langsam vor sich, so lassen sich zwei Fälle unterscheiden:

Einmal können die unverletzten Zellen in Zellteilung eintreten und Papillen daraus hervorgehen, die bei fortschreitender Verkorkung der Wundfläche ebenfalls in den Bereich der Verkorkung hinein bezogen werden können, bevor eine Verwachsung mit den Papillen der gegenüberliegenden Operationsfläche möglich war. Die Zellen unter ihnen verkorken fast immer.

Andererseits können unverkorkte Papillen der einen Wundfläche mit solchen der andern verwachsen und Korkzellen einschließen. In diesem Fall erscheinen die Wände der Korkzellen sehr gefaltet und zusammengedrückt; diese Zellen selber sind inhaltsleer. Daß man es hier wirklich mit Kork zu tun hat, zeigt die Sudan-Reaktion, obwohl vor Anwendung dieses Reagenzes die betreffenden Zellwände die Korkbräunung nicht wahrnehmen ließen. Man wird wohl nicht fehlgehen in der Annahme, daß die von Vöchting für die Runkelrübe

[1]) H. Vöchting, Untersuchungen zur experimentellen Anatomie und Pathologie des Pflanzenkörpers. Tübingen 1908, S. 90 u. f.

beschriebenen und abgebildeten Zellen[1]) auch solche Korkeinschlüsse in lebendem Gewebe sind.

Daß aber die Korkzellen allein um an der Wundfläche abgestorbenes Gewebe gebildet werden, was Vöchting behauptet[2]), ist für Solanum tuberosum nicht zutreffend. Wie früher dargelegt worden ist, schließt der Kork das gesunde Gewebe von Luftblasen ab, die an den Operationsflächen haften bleiben. Niemals habe ich bei meinen Versuchsobjekten gesehen, daß bei Luft-Abschluß Gruppen nicht verwundeter Zellen an der Wundfläche zugrunde gegangen und durch Kork umschlossen waren.

Am wichtigsten ist der Fall, in dem auf der Operationsfläche die Peridermbildung ganz unterbleibt und die Kartoffeln vollständig verwachsen. Er zeigt uns, daß bei der Kartoffelpfropfung Reis und Unterlage ganz verwachsen können, ohne daß das Verwachsungsgewebe durch ein Periderm auf beiden Seiten von dem tiefer gelegenen Gewebe getrennt wird, was Figdor[3]) behauptet hatte. Träte die nachträgliche Korkbildung und Zerstörung des Verwachsungsgewebes wirklich ein, so könnte man nur von einer Verkittung zwischen Reis und Unterlage reden.

b. Ferneres Verhalten der bei der Operation verwundeten Zellen.

Was zunächst das Verhalten der Wände der bei der Operation verwundeten Zellen betrifft, so ragen diese einige Zeit nach außen, legen sich jedoch über kurz oder lang den gesunden Zellen an, was schon Vöchting[4]) für die Runkelrübe, Strasburger[5]) für die Kartoffel erwähnt. Eine Resorption der Zellreste, wie sie Figdor[6]) beobachtet haben will, findet nicht statt. Die Vereinigung der Zellreste mit den gesunden Zellen kann manchmal derart innig sein, daß von den Resten kaum eine Spur zu sehen ist. Oft gelingt es erst bei Anwendung sehr starker Vergrößerung sie dicht an den Wänden lebender Zellen aufzufinden. Einmal freilich konnte ich solch einen Rest auf einer Papille beobachten. Ob die von Vöchting[7]) an den gemeinschaftlichen Wänden zweier Papillen gesehenen unregelmäßigen Verdickungen nicht auch solche Wandreste sind?

---

[1]) Vöchting, Transplantation a. a O. S. 112.
[2]) Vöchting, Transplantation a. a.. O. S. 115.
[3]) a. a. O. S. 197.
[4]) Vöchting, Transplantation a. a. O. S. 118 u. Tafel IX, 6.
[5]) E. Strasburger, Das botanische Praktikum. Jena. 4. Aufl. S. 279.
[6]) a. a. O. S. 185/186.
[7]) Vöchting, Transplantation a. a. O. S. 114, 115 u. Tafel VIII.

Bezüglich der übrigen Zellreste wirft Vöchting[1]) zwar die Frage auf, ob sie nicht resorbiert werden könnten, geht jedoch nicht näher auf die Frage ein.

Frank[2]) gibt an, daß bei jeder Verletzung die verletzten Zellen getötet werden.

Aus meinen früheren Ergebnissen – es kommen hier besonders die unter Wasser ausgeführten Versuche in Betracht — geht hervor, daß auch der tote Inhalt der verletzten Zellen von der Kartoffel gewöhnlich aufgegeben wird. Auf den Operationsflächen fanden sich fast stets Reste der durchschnittenen Zellen.

Dagegen wird nach den Untersuchungen von Verworn[3]) und Jensen[4]) bei Protozoen das Protoplasma von durch Operation verletzten Zellen von den gesunden resorbiert, und es ist nicht einzusehen, weshalb ein gleiches Verhalten nicht auch in Geweben eintreten soll. Direkt nachweisbar ist es allerdings, wenn völlige Verwachsung eingetreten ist, nicht.

c. Diskussion des die Regenerationsvorgänge einleitenden Reizes.

Die letzten Ursachen der Regeneration glaubt Billroth[5]) darin gefunden zu haben, daß die zu resorbierende Substanz der verletzten Zellleiber „gleichsam als formativer Reiz auf das übrige gesunde Gewebe wirkt“.

Wenn diese Hypothese richtig wäre, müßten bei der Kartoffel alle Veredelungen gelingen, also auch die Zylinder zusammenwachsen, deren Operationsflächen keine Gefäßbündel enthalten. Das trifft aber, wie wir früher gesehen haben, nicht zu. Die Zylinder sind nicht zusammengewachsen, obwohl auch ihr gesundes Gewebe Substanz der verletzten Zellen zu resorbieren gehabt hatte. Die Erklärung Billroths ist demnach zu verwerfen.

Aus dem gleichen Grunde fällt auch die eine Hypothese Figdors, daß im Marke ein lückenloser Verband zwischen den beiden Knollenhälften deswegen nicht hergestellt werden kann, weil die „einzelnen

---

[1]) Vöchting, Transplantation a. a. O. S. 120.

[2]) a. a. O. S. 62.

[3]) M. Verworn, Die physiologische Bedeutung des Zellkerns. Pflügers Archiv 1891. Bd. 51 (angegeben nach 4).

[4]) P. Jensen, Über individuelle Unterschiede zwischen Zellen der gleichen Art. Archiv für ges. Physiologie, Bd. 62. Bonn 1895.

[5]) Billroth, Über die Einwirkungen lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander. Eine biologische Studie. Wien 1890. — Da ich die Abhandlung nicht einsehen konnte, so berufe ich mich auf die Angaben Figdors, a. a. O. S. 185.

Zellen eine verschieden große Menge von verletzten Zellen resorbieren müssen".

Die unter Wasser operierten Knollen bildeten auch im Marke Papillen aus, wie schon früher gesagt worden ist. Dagegen waren überhaupt keine Papillen sichtbar an den Wundflächen der aus dem Marke gebohrten Zylinder, soweit Gefäßbündel auf der Schnittfläche fehlten. Dieses verschiedene Verhalten der Markzellen wird durch die Figdorsche Erklärung nicht beseitigt.

Auch Figdor genügte die Erklärung nicht, daß die Resorption der verletzten Zellen die einzige Ursache der Regeneration sei. Als weitere Ursache nahm er noch den gegenseitigen Druck der veredelten Objekte in Anspruch, jedoch dürfe dieser nicht allzu stark sein. Auch er gehört nicht zu den gesuchten Ursachen. Ich habe Knollen und Zylinder zusammenwachsen sehen, ohne daß ein Lindenbast einen Druck ausübte.

Abweichend von den eben genannten Autoren nimmt Driesch an, „daß jeder Teil des Organismus einem gewissen Vermittler jeweils eine spezifische Sonderheit gewissermaßen übergibt, daß eben dieser Vermittler in seinem Wesen verändert wird, sobald ein Teil des Organismus entfernt oder außer Funktion gesetzt ist, und daß endlich eben diese spezifische Änderung des Vermittlers unser »Restitutionsreiz« ist"[1]).

Diese etwas komplizierte und in ihrem Ausdruck nicht völlig klare „Erklärung" müßte auch in unserem Falle zutreffen, da Driesch als „‚Restitution' alle Arten der Wiederherstellung der gestörten Organisation" bezeichnet, auch die durch Papillenbildung von der Wunde her.

Selbst zugegeben, daß diese Erklärung für gewisse Fälle richtig sein kann, so trifft sie bei meinen Versuchen nicht zu. Denn wir haben gesehen, daß nur die Zylinder zusammenwachsen, bei denen mindestens eine Operationsfläche Gefäßbündel enthält. Dagegen unterblieb die Verwachsung, sobald kein Gefäßbündel an der Schnittfläche vorhanden war. Daraus geht doch vielmehr hervor, daß das Vorhandensein der Gefäße an der Wundfläche die Regenerationsvorgänge beeinflußt. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß Ernährungsbedingungen die Ursache der Regeneration sind.

Auch Simon[2]) hat die Ursachen der Regeneration studiert. Doch ist er zu keinem Resultat gekommen.

---

[1]) Hans Driesch, Der Restitutionsreiz. Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen, herausgegeben von Wilhelm Roux. Leipzig 1909. Heft VII.

[2]) S. Simon, Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung von Gefäßverbindungen. Berichte d. deutschen Botan. Gesellschaft. Bd. XXVI. 1908.

Auch mir ist es nicht gelungen, die letzte Ursache der Regeneration zu erkennen; die Einwirkung der Reize auf die lebende Substanz ist unserer Kenntnis vor der Hand noch entzogen.

b. Regenerationsvorgänge bei anderen unterirdischen Organen.

Die sämtlichen bisher besprochenen Versuche wurden an der Kartoffel ausgeführt. Daß man bei Verwendung von anderen unterirdischen Pflanzenorganen entweder gleiche oder mindestens ähnliche Ergebnisse erhalten würde, dürfte mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden. Bei den nun folgenden Versuchen wurde besonders darauf geachtet, ob zwei knospenlose Organe zusammenwachsen oder nicht, und wo die Verwachsung zuerst stattfindet.

1. Experimenteller Teil.

Was die Versuchsanordnung und die dazu verwendeten Pflanzenteile betrifft, so ist bezüglich dieser zu bemerken, daß die als Nährstoffbehälter fungierenden Bodenwurzeln von Dahlia variabilis L., die unterirdischen Sprosse der Aroidee Sauromatum guttatum Schott und von Dioscorea alata L. und endlich die Wurzeln von Boussingaultia baselloides H. B. K. benützt worden sind.

Die Versuche wurden derart eingerichtet, daß immer ein unterirdisches Organ, unter Wasser in zwei Teile quer durchschnitten, wieder zusammengebunden und mit Vaseline abgedichtet wurde. Manchen dieser operierten Organen ließ ich die Knospen, bei anderen dagegen entfernte ich sie.

Gegenüber den Versuchen an der Kartoffel ist hier insofern ein Unterschied, als entweder nur die eine Hälfte der zusammengebundenen Teile eine Knospe führte oder überhaupt keine.

Alle Objekte wurden, wie früher die Kartoffeln, auf ein Drahtnetz über einen Teller gelegt, der stets mit Wasser angefüllt war, und mit einer Glasglocke bedeckt.

Nach 14 Tagen untersuchte ich die ersten Stücke von Dahlia variabilis und Sauromatum guttatum, beide mit Knospen. Alle waren zusammengewachsen. In den folgenden drei Tagen öffnete ich auch die andern Objekte. Eine Verwachsung konnte in folgenden Fällen mit Sicherheit festgestellt werden: Dahlia variabilis, Sauromatum guttatum, Boussingaultia baselloides, alle mit und auch ohne Knospe. Die Verwachsung war dagegen nicht eingetreten bei Dioscorea alata.

Was den letztgenannten Fall betrifft, so kann man nur von einer Verklebung reden, da beide Hälften infolge reichlich ausgeschiedenen Pflanzenschleims fest aneinanderhafteten, jedoch keine Neubildung von Zellen stattgefunden hatte. Bei den anderen Objekten konnte eine Neubildung von Zellen stets wahrgenommen werden.

2. Anatomisch-histologischer Teil.

1. Dahlia variabilis.

Bevor ich meine Ergebnisse bespreche, will ich die bezüglichen Resultate Figdors anführen. Er sagt: „Im Gegensatz zu den eben erwähnten Rüben sehen wir hier[1]) beinahe überall eine »Verkittung« auftreten, höchst selten eine Verwachsung. Selbst in letzterem Falle bildet sich zu beiden Seiten der neugebildeten Zellen schon nach kurzer Zeit ein Periderm aus, so daß die Bedeutung der Verwachsung ziemlich belanglos ist“[2]). Und die Verkittung soll so vor sich gehen, daß die verletzten Zellen in eine gummiartige Kittschicht umgewandelt werden; besonders treffe dies bei den Zellulosemembranen zu, die chemisch metamorphosiert werden, und die dann eine Modifikation des Wundgummi darstellen sollen.

Wie bei der Kartoffel, weichen auch hier bei Dahlia variabilis meine Ergebnisse von denen Figdors ganz erheblich ab. So sah ich stets eine ganz innige Verwachsung auftreten, ganz gleich, ob ich die Knospe entfernt hatte oder nicht.

Die Verwachsung ging so vor sich, daß von beiden Hälften her Papillen vorwuchsen und den kleinen Zwischenraum zwischen den Wundflächen ausfüllten. An manchen Stellen war die Verwachsung so weit vorgeschritten, daß es schwierig war, hier die Grenze zwischen den beiden Hälften zu ziehen. Aber eine Korkbildung nach der Verwachsung, wie sie Figdor gesehen haben will, war niemals zu beobachten.

Es könnte der Einwand gemacht werden, daß in dem durchscheinenden Lichte des Mikroskops Erhebungen und Vertiefungen auf der von Figdor beschriebenen Kittsubstanz auf mich den Eindruck von Zellmembranen und Zellen gemacht hätten, aus denen ich dann wieder auf eine Verwachsung geschlossen habe. Doch dieser Einwand wird sofort hinfällig, weil sich fast stets die Wandreste der durchschnittenen Zellen nachweisen ließen, die von meinem Vorgänger gesehene Kittsubstanz also nicht vorhanden war. Außerdem konnte man eine Überbrückung der durchschnittenen, infolge neuentstan-

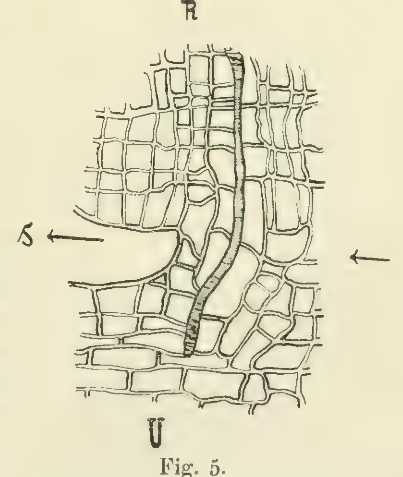


Fig. 5.
Verwachsung bei Dahlia variabilis.
U. Unterlage; R. Reis. (Vergr. 60.)

[1]) Gemeint ist Dahlia variabilis.
[2]) a. a. O. S. 198.

denen Parenchyms getrennten Gefäßbündel durch neu gebildete Tracheïden und Tracheen entstehen, ja schon vollzogen sehen (Fig. 5). Es traten sogar an der Wundfläche einer Knolle, bei der ich, wie ich noch hervorheben will, alle Knospen entfernt hatte, in dem dort enstandenen Parenchym Tracheïden auf, die sich direkt vor die durchtrennten Gefäße legten (Fig. 6); an einer anderen Stelle war die Trachee

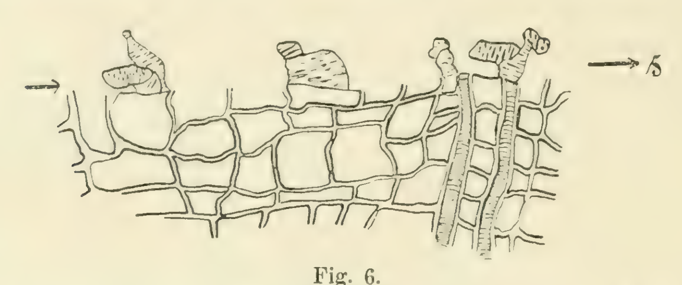


Fig. 6.
Dahlia variabilis. An der Wundfläche auftretende Tracheïden. (Vergr. 60.)

über das Verwachsungsgewebe hinweg verlängert. Jede Täuschung ist somit ausgeschlossen.

Der Grund für die auffallende Abweichung in unseren Ergebnissen ist allein in der an der Wundfläche vermiedenen Korkbildung zu suchen, ebenso wie bei der Kartoffel. Wenn auch bei meinen Knollen, die unter Wasser operiert worden waren, leider infolge des nicht luftdichten Verschlusses die Korkbildung nicht immer ganz unterblieben ist, so ist sie doch auf ein Minimum beschränkt. Das auf diese Weise erzielte Ergebnis ist daher einwandfreier als das von Figdor.

Bei den anderen Objekten kann ich mich kürzer fassen, da die anatomischen Ergebnisse zum großen Teil mit den früheren übereinstimmen.

2. Sauromatum guttatum.

Bei den kleinen zwiebelähnlichen Knollen dieser Pflanze ist die Verwachsung nach 14 Tagen auf der ganzen Schnittfläche so vollkommen, daß die Stelle zunächst nicht mehr herauszufinden war, wo der Schnitt gemacht worden war. Erst als ich die Schnitte, und zwar möglichst dünne, mit Kalilauge behandelte, um die massenhaft aufgespeicherte Stärke fortzubringen, gelang es mir, die eigentliche Verwachsungsstelle aufzufinden. Sie war daran kenntlich, daß das Verwachsungsgewebe relativ große Interzellularen besaß, größere als in dem übrigen Gewebe vorhanden waren. Auch waren in dem auf der Wundfläche entstandenen Parenchym an mehreren Stellen Tracheïden sichtbar.

Bei einem Präparate fand sich in der Mitte der Schnittstelle etwas Kork, der aber nicht durch ein Meristem erzeugt worden war wie dies bei der Kartoffel der Fall war, sondern dadurch, daß die von Anfang an vorhandenen, nicht neu gebildeten parenchymatischen Zellen ihre Wände verkorkt hatten. Daraus, daß die Korkbildung nur einmal beobachtet wurde, und aus dem Aussehen dieses Objektes ließ sich folgern, daß auch dieses Mal das Vorhandensein einer Luftblase die lokale Korkbildung verursacht hatte.

Bemerkenswert ist noch, daß Sauromatum guttatum, wie alle Monokotyledonen, kein Cambium hat. Wenn sie trotzdem verwachsen ist, so folgt daraus, daß das Cambium nicht nötig ist zur Verwachsung, sondern nur das Vorhandensein von wachstumfähigen Zellen.

3. Boussingaultia baselloides.

Ein weiteres Versuchsobjekt war Boussingaultia baselloides. Die Verhältnisse hier weichen fast gar nicht von den eben beschriebenen ab. Eine Wiederholung scheint daher überflüssig.

4. Dioscorea alata.

Schließlich bleibt noch die Besprechung der Verkittung von Dioscorea alata übrig. Wie schon im experimentellen Teil dieses Abschnittes angedeutet worden ist, ließ sich hier keine Verwachsung im eigentlichen Sinne nachweisen. Die beiden Teile wurden durch reichlichen Schleim zusammengehalten, aber das Kriterium der Verwachsung, die neugebildeten Zellen, fehlte vollständig. Die Wundfläche hatte sich in der Zeit von 16 Tagen garnicht verändert. Die Ränder der verletzten Zellen waren vollkommen erhalten und hatten sich an das gesunde Gewebe nicht angelegt. Ebenso war die Korkbildung an der Wundfläche unterblieben, was für eine Verwachsung günstig gewesen wäre. Alle Objekte, die mit Knospe und auch die knospenlosen, waren turgeszent. Es bleibt eben nur die Annahme übrig, daß wir es hier mit einer Verklebung durch Pflanzenschleim zu tun haben, der aus den zahlreichen, bei der Operation durchschnittenen Schleimröhren ausgeflossen war.

Versuche, die mit Bulben von Coelogyne cristata angestellt wurden, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis.

II. Regenerationsvorgänge bei oberirdischen Sprossen.

a. Experimenteller Teil.

Nach den Versuchen mit Pflanzenteilen, die sich unter der Erde befinden, studierte ich auch die Regenerationsvorgänge an oberirdischen Sprossen in bezug auf die Frage, ob das Anwachsen der Propfreiser abhängig ist von der aufgepfropften Knospe oder nicht.

Zu meinen Versuchen verwendete ich, um möglichst einwandfreie Resultate zu erzielen, die verschiedensten Pflanzen, nämlich:

1. Epiphyllum truncatum Haw. 2. Cereus hystrix Sweet. 3. Pilocereus sublatus. 4. Mammillaria meiacantha Engelm. 5. Opuntia robusta Wendt. 6. Opuntia amylea Tenor. 7. Opuntia imbricata D.C. 8. Bryophyllum crenatum. 9. Bryophyllum calycinum Salisb. 10. Begonia ulmifolia Willd. 11. Begonia fuchsioides. 12. Fuchsia hybrida var. Gefüllte. 13. Fuchsia hybrida var. Göttingen. 14. Fuchsia hybrida var. Koralle. 15. Pelargonium zonale var. Meteor. 16. Pelargonium peltatum. 17. Callisia repens. 18. Tradescantia fluviatilis. 19. Philodendron erubescens.

§ 1. Pfropfversuche an Cacteen.

Bei Epiphyllum truncatum schnitt ich das äußerste der blattartigen Glieder ab, spitzte es zu, so daß es in die keilförmige Öffnung des nächstvorhergehenden Gliedes paßte, und umwand die Veredelungsstelle mit Werg und Bast. (Fig. 7.) Damit das Reis seine Stellung

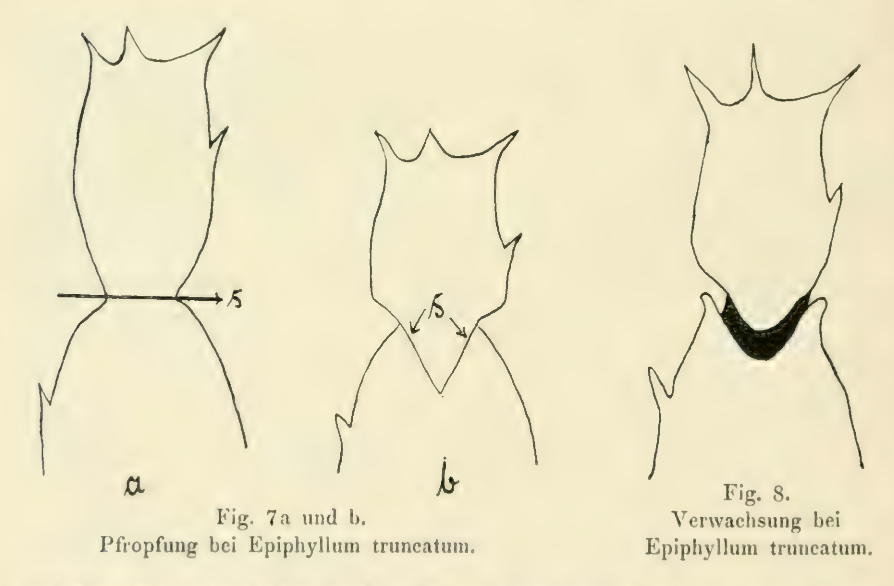


Fig. 7a und b.
Pfropfung bei Epiphyllum truncatum.

Fig. 8.
Verwachsung bei
Epiphyllum truncatum.

behalte, waren auf den beiden Seiten zwei breite, jedoch ganz dünne Holzplättchen von 5 cm Länge über die Pfropfstelle gelegt. Einige der eingesetzten Stücke hatten ihre bestachelten Knospen, bei andern waren sie alle entfernt worden. Die Operation war am 26. November ausgeführt. Aber erst am 11. März zeigte das Wachstum der übrigen nicht operierten Phyllocladien, daß die Zeit der Saftruhe vorüber war. Als ich daraufhin den Verband öffnete, bot sich mir das in der Fig. 8 wiedergegebene Bild dar. Die Operationsflächen der Unterlage und

des Reises hatten sich abgerundet und waren in ihrer Mitte verwachsen. Auffällig war der mächtige Wundgewebekörper, der hier gebildet worden war. Er maß an der breitesten Stelle fast 3 mm. Daraus konnte man schon schließen, daß hier eine Verwachsung stattgefunden hatte.

Als ich aber zur selben Zeit die knospenlosen Objekte öffnete, ergab sich, daß die eingesetzten Reiser von der Wundfläche her abzufaulen begannen, ohne daß sie verwachsen gewesen wären.

Der Fäulnisprozeß machte sich jedoch nur auf dem Reise bemerkbar, nicht auf der Unterlage. Daraus, daß das Reis erst $3\frac{1}{2}$ Monate nach der Operation abzufaulen beginnt, und daß es allein das Reis ist, auf dem sich dieser Prozeß bemerkbar macht, muß man schließen, daß die Infektion nicht bei der Operation erfolgt ist, sondern daß das eingesetzte Objekt abstirbt, weil es ohne Knospe unfähig ist, mit der Unterlage zu verwachsen und so weiter zu leben.

Vergleichen wir dieses Resultat mit dem bei Solanum tuberosum und den anderen unterirdischen Organen erhaltenen, so sehen wir ein ganz auffälliges Abweichen. Während sich früher ergab, daß die Knospen dort nicht zum Anwachsen des Reises unumgänglich nötig sind, muß nach diesem Versuch die Knospe vorhanden sein, wenn eine Verwachsung stattfinden soll. Weitere Versuche an anderem Material ergaben dasselbe Resultat.

Auf Opuntia robusta als Unterlage setzte ich ein Cladodium von Opuntia amylea als Reis. Die hierbei ausgeführte Veredlungsart war die gerade Kopulation (Fig. 9); das Abfallen des Reises wurde durch

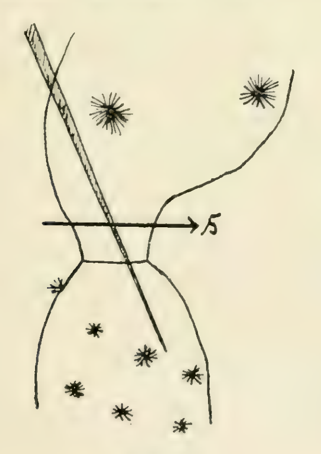


Fig. 9.
Gerade Kopulation bei Opuntia.

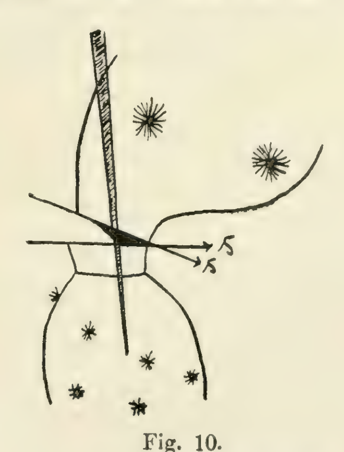


Fig. 10.
Verwachsung von Opuntia amylea auf Opuntia robusta.

einen von oben hereingeführten Stachel verhindert. Leider stand mir nur ein Exemplar zur Verfügung, sodaß ich mich darauf beschränken

mußte, dem Reis die Knospen zu lassen, um die Verwachsungsverhältnisse studieren zu können. Wie Fig. 10 andeutet, war auch Opuntia amylea vollkommen zu verwachsen im Begriff, als der Versuch abgebrochen und das Objekt der histologischen Untersuchung geopfert wurde.

Bei einem dritten Versuch wurde auf Opuntia imbricata ein Cereus hystrix gepfropft nach der in Fig. 7 b dargestellten Methode. Beide Teile behielten auch dieses Mal ihre Knospen. Wie innig hier die Verwachsung nach nicht allzu langer Zeit vorgeschritten war, ließ sich daran erkennen, daß Cereus hystrix, das Reis, zwei Triebe entwickelt hatte, die 1½ cm bzw. 1 cm lang waren. Auch hier bestätigte die anatomisch-histologische Untersuchung die schon durch das Aussehen der Objekte gewonnene Vermutung, daß Verwachsung eingetreten war.

Da der Cereus hystrix seiner langen, gut sichtbaren Stacheln wegen mir ein besonders gutes Objekt zu sein schien, an dem ich die Regenerationsvorgänge bei Entfernung aller Knospen studieren könnte, so entfernte ich alle Knospen, schnitt die Pflanze unter den letzten entfernten Dornen horizontal durch, drückte das knospenlose Reis auf die Unterlage und umgab die Wundränder mit Baumwachs, womit auch alle durch Entfernung der Stacheln entstandenen Wunden abgeschlossen wurden. Hierdurch sollte die abnorme Wasserabgabe des Reises aus der gesetzten Wunde verhindert werden. Trotzdem verlor es bald seine Turgeszenz und begann schon nach einer Woche einzuschrumpfen. Nach drei Wochen war die Schrumpfung bereits so weit vorgeschritten, wie es die Photographie zeigt (Fig. 11); nach weiteren 3 Wochen wäre es vielleicht ganz vertrocknet gewesen. Dieses Endstadium wartete ich jedoch nicht ab, sondern unterwarf gleich nach dem Photographieren die Objekte der Untersuchung. Sie ergab, wie später darzustellen sein wird, daß eine Verwachsung des Reises mit der Unterlage nicht stattgehabt hatte. Und es gehörten doch Reis und Unterlage vorher zu einer einzigen Pflanze, sie paßten auch mit ihren Geweben genau aufeinander, daher kann nur das Fehlen sämtlicher Knospen das Zusammenwachsen verhindert haben.

Schließlich setzte ich auf Mammillaria meiacantha einen Pilocereus sublatus, der gleichfalls anwuchs. Aus den angeführten Versuchen ergibt sich, daß Cacteen nur dann verwachsen, wenn der aufgesetzte Teil Knospen, Triebe hat, daß dagegen diese unterbleibt, sobald die Knospen entfernt sind.

Da ich auch ein Zusammenwachsen feststellen konnte, wenn das knospentragende Reis mit horizontaler Schnittfläche auf die Unterlage gesetzt wurde, so folgt, daß der Erfolg der Operation nicht abhängig ist von dem Winkel, den die Schnittflächen mit der Horizontalen bilden.

Ohmann[1]) behauptete nämlich, daß die Operation um so weniger erfolgreich sei, je kleiner der Winkel zwischen Schnittfläche und der Horizontalen sei. Dieser Winkel hat meiner Meinung nach für das



Fig. 11.
Pfropfversuch mit Cereus hystrix (rechts); Ergebnis des Pfropfversuches an einer Fuchsie (links). V = Veredlungsstelle.
Sonstige Erklärung im Text (Photogr. Hugo Groß).

Zustandekommen der Verwachsung gar keine Bedeutung, zum mindesten nicht die ihm von Ohmann zuerkannte. Dies wird weiter unten nochmals besprochen werden.

§ 2. Weitere Propfversuche an Dikotyledonen und Monokotyledonen.

Gleichzeitig führte ich Pfropfversuche an anderen Gewächshauspflanzen aus.

---

[1]) Martin Ohmann, Über die Art und das Zustandekommen der Verwachsung zweier Pfropfsymbionten. Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abteilung, XXI. Band. Jena 1908. No. 7/8, 10/12.

Unterlage	Reis	Knospe mit	Knospe ohne	Angewachsen
Bryophyllum crenatum . .	Bryophyllum calycinum . . .	—	3	—
= calycinum . .	= crenatum . . .	—	3	—
= = . .	= crenatum . . .	6	—	6
= = . .	= calycinum . . .	5	—	5
= = . .	= calycinum	—	6	—
Fuchsia hybrida var. Gefüllte	Fuchsia hybrida var. Göttingen	2	—	2
= = = =	= = = Göttingen	—	3	—
= = = =	= = = Coralle .	—	2	—
= = = =	= = = Gefüllte .	4	—	3 [1])
= = = =	= = = Gefüllte .	—	4	—
Begonia ulmifolia	Begonia fuchsioides	—	3	—
= = ...	= = ...	2	—	2
= fuchsioides . . .	= = ...	—	1	—
Pelargonium zonale var. Meteor	Pel. zonale var. Meteor . .	2	—	2
= = = =	= peltatum	4	—	4
= = = =	= peltatum	—	4	—
= = = =	= zonale var. Meteor . .	—	3	—
Callisia repens	Callisia repens	3	—	3
= = ...	= = ...	—	5	—
= = ...	Tradescantia fluviatilis . . .	2	—	2
Tradescantia fluviatilis . .	Tradescantia fluviatilis . . .	4	—	4
= = . .	= = . . .	—	5	—
= = . .	Callisia repens	2	—	2
= = . .	= = ...	—	2	—
Philodendron erubescens . .	Philodendron erubescens . .	1	—	1

Hierzu will ich bemerken, daß die Mehrzahl der Pflanzen nach Art der Kopulation, nur wenige nach der Art der Triangulation (Fig. 7 b) veredelt worden sind.

Nur einige Veredlungen sollen noch genauer besprochen werden.

1. Dikotyledonen.

Interessant ist eine Operation, die ich an einer Fuchsie ausführte. Am Hauptstamm entsprangen auf gleicher Höhe zwei Seitenäste von gleicher Länge, ungefähr 14 cm. Jeden Zweig schnitt ich 6 cm vom Ursprung schräg ab (Kopulation), setzte ihn an dieselbe Stelle und dichtete diese bei beiden mit Baumwachs ab. Von dem einen Reis entfernte ich alle Knospen, nur ein halbiertes ausgewachsenes Blatt ließ ich ihm, damit die Transpiration nicht allzu groß war; dem andern Reis dagegen ließ ich alle Blätter und Knospen. Und schließlich schnitt ich auch den Hauptstamm 2 cm über dem Ursprung der beiden Seitenäste ab, damit alle Nahrung nur in diese hineingehen

[1]) Ein Reis wurde umgebrochen.

sollte. Welches Bild die so behandelte Pflanze gewährte, ist in Fig. 12 schematisch dargestellt worden. Daß beide Reiser unter gleichen äußeren Bedingungen gehalten wurden, sei besonders hervorgehoben.

Nach Ablauf von 14 Tagen hatte sich das Aussehen des Objektes wesentlich verändert. Das knospenlose Reis war beträchtlich geschrumpft (4 cm) und schon vollständig abgestorben, das andere dagegen hatte sich üppig weiter entwickelt, was ja auch in der Photographie deutlich erkennbar ist. [Zum Zwecke der Photographie (Fig. 11) wurden beide Äste an der Ursprungsstelle abgeschnitten, der mit dem knospenden Reis aber noch weiter verkürzt. Daher ist bei dem einen Zweig die Veredlungsstelle tiefer als bei den andern.]

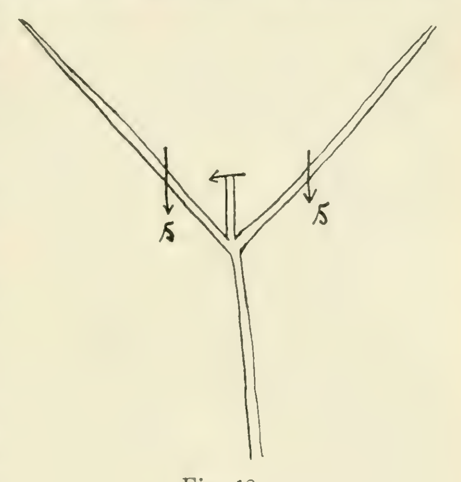


Fig. 12.
Pfropfversuch an einer Fuchsie (Schematisch).

Worauf beruht die ungleiche Entwicklung der beiden Reiser? Der Einwand, daß der eine Zweig durch seine tiefere Stellung am Hauptstamm dem anderen Nährstoffe entzogen haben könnte, ist hinfällig, weil beide Zweige am Hauptstamm auf gleicher Höhe entsprangen, also auch beiden in gleicher Weise die Nahrung zufließen könnte. Nun wirken aber die Vegetationspunkte als Anziehungszentren für Baustoffe. Daraus folgt, daß das knospenlose Reis eingegangen ist, weil es keine Baustoffe heranziehen konnte. Für das Zustandekommen der Verwachsung ergibt sich hieraus auch bei diesem Objekt, daß sie abhängig, und zwar allein abhängig ist von der gleichzeitig mit dem Reis aufgepfropften Knospe.

a. Einfluß junger Blätter auf die Regenerationsvorgänge.

Ich habe vorher erwähnt, daß ich dem knospenlosen Reis ein ausgewachsenes Blatt ließ. Das hat seinen Grund in folgendem:

Bei Pelargonium zonale var. Meteor und Bryophyllum calycinum führte ich an mehreren Pflanzen Kopulationsversuche aus, entfernte alle Vegetationspunkte an den Reisern, ließ ihnen aber mehrere nicht ausgewachsene Blätter. Nach kurzer Zeit ergab sich, daß sämtliche Reiser angewachsen waren, während die Veredlungen bei Kontrollpflanzen, denen ich alles Laub genommen hatte, eingegangen waren

Aus vorstehendem Versuch folgt, daß junge noch im Wachstum begriffene Blätter auch als Attraktionszentren wirken, gleich wie die Knospen.

b. Verhalten umgekehrt eingesetzter Stengelstücke.

Bei Bryophyllum calycinum und Pelargonium zonale var. Meteor (den besten Versuchsobjekten, die ich kennen lernte) führte ich noch folgende Modifikation der früheren Versuche aus: Den Stamm jeder Pflanze schnitt ich in drei Teile, die Unterlage, die im Topf blieb, das mittlere Stück und das Reis. Das mittlere Stück setzte ich einmal in seiner natürlichen Orientierung zwischen Reis und Unterlage, das andere Mal dagegen umgekehrt. Dieser Versuch wurde ausgeführt sowohl für Reis mit Knospe als auch ohne Knospe. Das Endergebnis war, daß das mittlere Stück eingewachsen war, sobald das Reis eine Knospe hatte, daß es aber zugrunde ging, wenn das Reis knospenlos war. Ob der mittlere Teil in seiner ursprünglichen Lage oder in umgekehrter eingesetzt war, schien für die Verwachsung ganz gleichgültig zu sein. Es handelte sich auch hier nur um das Vorhandensein der Knospe.

Wenn auch die hier mitgeteilten Versuche für die Richtigkeit des Satzes sprechen, daß das Verwachsen von Reis und Unterlage allein abhängig ist von der aufgepfropften Knospe, so möchte ich ihn doch noch durch einige andere Tatsachen erhärten.

2. Monokotyledonen.

Um die Wichtigkeit der Knospe beim Anwachsen von Pfropfreisern auch bei Monokotyledonen zu studieren, führte ich die schon in der Tabelle aufgeführten Versuche an Callisia repens, Tradescantia fluviatilis und Philodendron erubescens aus. Bei allen Objekten fand eine Verwachsung nur dann statt, wenn das Reis eine Knospe hatte.

Bemerkenswert ist aber, daß eine Verwachsung zwischen Callisia und Tradescantia immer längere Zeit beanspruchte, als wenn Reis und Unterlage derselben Pflanze angehörte. Doch ist diese Erscheinung ganz nebensächlich für unsere Untersuchung.

Für uns ist es wichtig, die Tatsache feststellen zu können: auch bei Monokotyledonen kommt Verwachsung ohne Vorhandensein eines Cambiums zustande; sie ist abhängig von der aufgepfropften Knospe.

Die Photographie von Philodendron erubescens (Fig. 13), die 20 Tage nach der Operation angefertigt worden ist, macht durch die Turgeszens von Reis und Unterlage wahrscheinlich, daß beide verwachsen sind. Der anatomische Befund hat dies auch bewiesen.

§ 3. Versuche mit unter Wasser ausgeführter Operation.

Schließlich möchte ich noch einen Versuch mit unbestimmtem Ergebnis erwähnen. Da bei fast allen vorher besprochenen Versuchen der die Verwachsung einleitende Callus eine die Wundfläche überziehende braune Schicht durchbrechen mußte, operierte ich Bryo-

phyllum, Pelargonium und Begonia auch unter Wasser. Leider ließen sich die Pflanzen diese Behandlung nicht gefallen, sondern begannen schon nach vier Tagen zu welken und gingen schließlich ganz ein. Diesen Versuch wiederholte ich zweimal, immer mit dem gleichen Ergebnis.



Fig. 13.
Pfropfversuch an Philodendron erubescens. (Photogr. Hugo Groß.)

§ 4. Zusammenfassung.

Fassen wir das Ganze nochmals zusammen, so ergibt sich, daß die Verwachsung von Reis und Unterlage beeinflußt wird von der Knospe des Reises. Dies ist bestätigt durch Versuche an Dikotyledonen: Cacteen, Bryophyllum, Fuchsia, Begonia, Pelargonium, ferner an Monokotyledonen: Callisia, Tradescantia, Philodendron.

Die Verwachsung bei Monokotyledonen ist lange Zeit hindurch angezweifelt worden. Erst Daniel hat nachgewiesen, daß auch bei diesen Pflanzen eine Verwachsung möglich ist. Doch ist er zu der

Meinung gekommen, daß sie von verschiedenen Faktoren abhängig sei. Er sagt nämlich: „En résumé, la réussite de la greffe anglaise simple[1]) de la Vanille et du Philodendron sur eux-mêmes montre que la greffe des Monocotylédones, même dépourvues de couches génératrices, ne doit plus être considérée comme impossible. Cette réussite fait voir aussi que la reprise dépend de l'étendue des surfaces en contact, du procédé de greffage et de la nature des plantes que l'on veut associer[2])."

Was zunächst die „couches génératrices" betrifft, so muß die Beobachtung Daniels auf Täuschung beruhen. Es können nämlich knospenlose Reiser so mit der Unterlage verklebt sein, daß man bei oberflächlicher Betrachtung glaubt, eine Verwachsung konstatieren zu müssen. Erst die genaue mikroskopische Untersuchung zeigt dann, daß es nur eine Verklebung ist.

Auf die Größe der Wundflächen kommt es ebensowenig an. Der Winkel zwischen der Horizontalen und der Schnittgeraden — von ihr hängt doch auch die Größe der Wundflächen ab — kann beliebig groß oder klein sein, wie meine Versuche an Tradescantia und vorher an Cacteen beweisen. Nur scheint bei kleinem Winkel die Verwachsung etwas langsamer vor sich zu gehen. Wichtig ist für uns, daß sie bei kleinem Winkel nicht unterbleibt. Es ist danach die Größe der Wundfläche nebensächlich. Es kommt hauptsächlich auf die Knospe an, sie allein ist bei oberirdischen Organen das Agens bei der Verwachsung.

Nebenbei möchte ich noch bemerken, daß gerade die Tradescantia-Sprosse dazu neigen, an ihren Knoten Wurzeln auszubilden. Die Wurzeln müssen natürlich sofort entfernt werden, weil sie sonst das Studium der Verhältnisse an der Kopulationsstelle dadurch unmöglich machen, daß das Reis keine Verwachsung mit der Unterlage einzugehen braucht, da es sich selber ernähren kann.

b. Anatomische Untersuchung der Pfropfstellen.

§ 1. Bräunung der Wundflächen und Verhalten der durchschnittenen Zellen.

Betrachtet man Schnitte durch nicht verwachsene Veredlungsstellen oder durch solche, bei denen eine Verwachsung eben erst eingetreten ist, so fällt, ähnlich wie bei Solanum tuberosum und den anderen vorher besprochenen Objekten, auch hier die Bräunung der Wundfläche auf.

---

[1]) d. h. Kopulation.

[2]) Lucien Daniel, Greffe de quelques Monocotylédones sur elles-mêmes. Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences. T. C. XXIX. Paris 1899, II, S. 656.

Die braune Farbe findet sich einmal in den Zellresten der durchschnittenen Zellen, dann aber auch in der ersten bis dritten Schicht der unter der Wundfläche liegenden Zellen. Letztere verlieren nämlich bald nach der Operation ihr lebendes Protoplasma und weisen dann die braune Färbung der Zellwände auf.

Dieser Tatbestand ist schon von Schleiden[1]) gefunden, später von Mohl[2]) und Strasburger[3]) bestätigt worden. Ersterer machte bereits auf die Erscheinung aufmerksam, daß sich die Bräunung nur auf die „sekundären Verdickungsschichten der Zellmembranen beschränkt, was sich besonders an Spiralgefäßen beobachten läßt", daß dagegen die primäre Zellmembran ungebräunt bleibe.

Die Ursache der Bräunung ist, wie bei der Kartoffel, die Einwirkung der Luft auf die durch die Operation freigelegten Zellen. Daß wir es nicht mit Kork zu tun haben, lehrt die Behandlung von Schnitten mit Sudan-Glyzerin, wobei die Korkreaktion, Rotfärbung der Membranen, ausbleibt.

Was das Verhalten der bei der Operation verwundeten Zellen betrifft, so verweise ich auf die bezüglichen Ausführungen bei der Kartoffel, da die Verhältnisse hier mit jenen genau übereinstimmen.

§ 2. Pfropfstellen von Dikotyledonen.

1. Phyllocladien von Epiphyllum truncatum.

Bei den isolateral gebauten Phyllocladien von Epiphyllum truncatum geht die Verwachsung derart vor sich, daß die Mesophyllzellen sich strecken, „voluminöse Hypertrophien bilden", wie Küster[4]) sagt, in Zellteilung eintreten und so an der Wundfläche einen callusartigen Wulst erzeugen. Dies gilt jedoch nur für das Reis. Die Wundfläche der Unterlage ändert sich zunächst gar nicht, erst wenn der Callus des Reises die braune Schicht, die ihn überzieht, gesprengt und seine Zellen sich mit denen der Unterlage an irgend einer Stelle vereinigt haben, beginnt auch in dieser die vorher nur geringe Zellteilung lebhafter zu werden, und auf der ganzen Wundfläche tritt Verwachsung ein.

Sobald die erste Vereinigung von Reis und Unterlage stattgefunden hat, treten im Wundgewebe die von Vöchting[5]) für die Runkelrübe beschriebenen und später von Simon[6]) noch eingehender studierten Tracheïden auf (Fig. 14).

---

[1]) a. a. O. S. 353 u. f.

[2]) H. v. Mohl, Über den Vernarbungsprozeß bei der Pflanze, Botanische Zeitung, 7. Jahrgang, 1849, S. 641 u. f.

[3]) a. a. O. [4]) a. a. O. S. 94.

[5]) Vöchting, Transplantation a. a. O. S. 116.

[6]) a. a. O. S. 364 u. f.

Dies gilt auch, und damit vervollständige ich die Ergebnisse der genannten Autoren, für das Mesophyll der Flachsprosse von Epiphyllum truncatum.

Auf einen Querschnitt, der, lebend erhalten, anfangs nur einzelne Tracheïden im Wundgewebe zeigte, sind innerhalb von zwei Monaten noch mehr Tracheïden gebildet worden, deren Querwände zum großen Teile schon resorbiert sind. Es sind auf diese Art Gefäßtracheïden entstanden, die sich an die Enden der durchschnittenen Gefäße anlehnen und so die unterbrochene Wasserleitung zwischen Unterlage und Reis wieder herstellen.

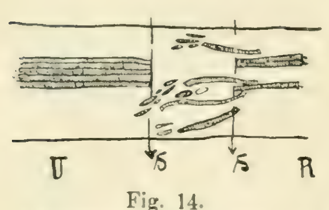


Fig. 14.
Auftreten von Tracheïden im Wundgewebe von Epiphyllum truncatum.

2. Pflanzen mit unverholzter Innenzone.

Bei der Kopulation von Pflanzen mit unverholzter Innenzone sieht man nach der Operation zunächst die Bräunung der Wundflächen auftreten. Unter der braunen Zone beginnt bei einem Reis mit Knospe bald die Ausbildung des Wundcallus, und zwar nicht allein am Cambium, sondern auf der ganzen Wundfläche. Dieser wird rasch größer und durchbricht die die völlige Vereinigung von Unterlage und Reis hindernde braune Schicht. Eine Resorption dieser Schicht, was Mäule[1]) behauptet, konnte ich niemals beobachten. Inzwischen hat auf dem apikalen Ende der Unterlage eine Callusbildung begonnen. Jedoch ist hier das Wundgewebe viel geringer als beim Reis.

Aus den Verwachsungsstadien geht hervor, daß die erste Vereinigung der Pfröpflinge allein vom Reis ausgeht, daß die Unterlage nur dadurch eine Vereinigung sicherstellt, daß sie nachher auf ihrer Wundfläche eine verhältnismäßig dünne Schicht von Callus ausbildet (Fig. 15).

Diesen Tatbestand konnte ich außer an vielen anderen Objekten auch an der Verwachsung von Cereus hystrix auf Opuntia imbricata feststellen. Die beigefügte Darstellung des Querschnittes durch die Vereinigungsstelle (Fig. 16) läßt erkennen, daß der erste Anstoß dazu vom Reis, in unserem Falle also von Cereus hystrix ausgegangen ist. Sein Callus hat die braune, die eigene Wundoberfläche bedeckende Schicht gesprengt, sich durch die Unterlage gleichsam hindurchgezwängt und den Anschluß mit dem wachstumfähigen Gewebe der Unterlage hergestellt.

---

[1]) Mäule, Der Faserverlauf im Wundholz. Bibliotheca Botanica 1895, Heft 23.

Die Stelle, wo die erste Bildung des Wundgewebes erfolgt, ist sowohl beim Reis als auch bei der Unterlage das teilungsfähige Parenchymgewebe des Holzteils und auch das Cambium. Oft aber bedeckte den Holzteil schon eine dicke Callusschicht, während das Cambium noch keine Zellteilungen aufwies.

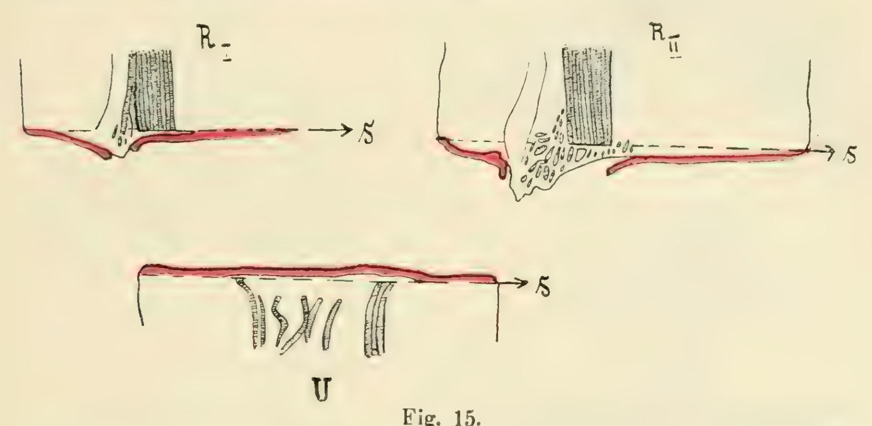


Fig. 15.
Beginn der Verwachsung bei Cereus hystrix, R I: Jüngeres Stadium des Reiscallus, R II: älteres Stadium. (Vergr. ungefähr 30.)

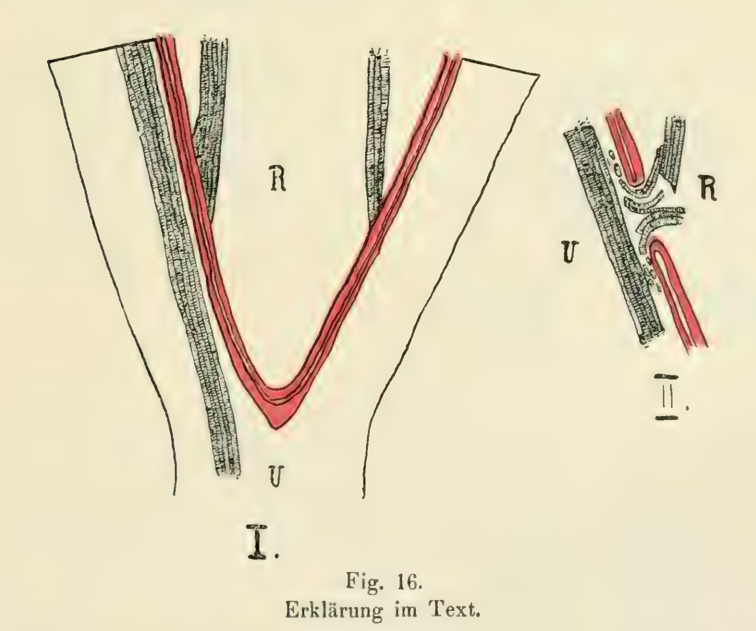


Fig. 16.
Erklärung im Text.

Dies konnte ich an vielen Veredlungen beobachten. Aus der großen Anzahl will ich nur einen besonders typischen Fall herausgreifen.

Bei Pelargonium zonale ließen sich folgende Stadien feststellen (Fig. 17, I—V):

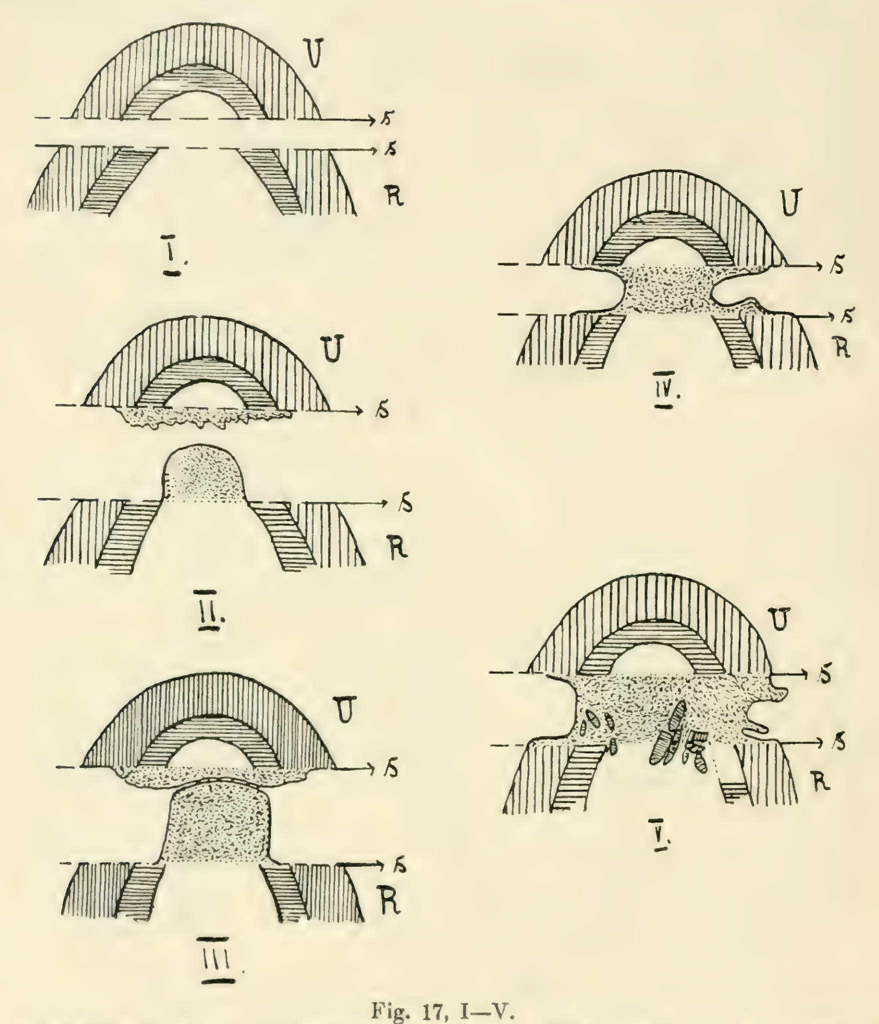


Fig. 17, I—V.
Erklärung im Text. U = Unterlage; R = Reis. Die Figuren stellen Horizontalschnitte durch schräge Kopulationen dar.

1. Weder Unterlage noch Reis. zeigen Veränderungen an der Operationsfläche, ausgenommen die Bräunung dieser.

2. Die Operationsfläche der Unterlage wird von einem Wundgewebe bedeckt, das sich, im Querschnitt betrachtet, von Cambium zu Cambium über den Holzkörper hinweg erstreckt. Beim Reis dagegen ist nur am Mark Callus nachzuweisen, der aber den der Unterlage um das Doppelte an Länge übertrifft.

3. Während der Callus der Unterlage sich fast über die ganze Operationsfläche erstreckt, aber nur schwaches Wachstum zeigt, berührt der des Reises bereits jenen. Erst jetzt ist auf Seiten des Reises eine Beteiligung des Cambiums an der Callusbildung bemerkbar.

4. Der Callus von Reis und Unterlage ist verwachsen.

5. Im Wundgewebe setzt die Bildung von Tracheïden ein.

Daraus geht hervor, daß bei Kopulationen, die an Pflanzen mit noch teilungsfähigem Markgewebe ausgeführt werden, in erster Linie dieses die Verwachsung bewirkt, und daß das Cambium erst später daran teilnimmt.

Aber wie wir im experimentellen Teil gesehen haben, findet keine Verwachsung statt, wenn dem Reis die Knospe fehlt. Es ist also für das Zustandekommen einer Verwachsung das Vorhandensein einer Knospe am Reis von ebenso großer Bedeutung wie das von wachstumfähigem Gewebe am Reis und Unterlage.

3. Pflanzen mit verholztem Zentralzylinder.

Wachstumfähiges Gewebe ist bei krautigen Pflanzen sowohl Mark als auch Cambium und Rinde. Bei den Holzpflanzen dagegen ist das Cambium wachstumfähig, das Holz nicht.

Wenn nun Ohmann[1], sich besonders auf die Angaben von Herse[2] stützend, behauptet, daß die Callusbildung in erster Linie vom Cambium aus erfolgt, so ist dies cum grano salis zu verstehen. Seine Untersuchungen beziehen sich nämlich vorwiegend auf die Verwachsung an holzigen Organen, weniger auf die an krautigen. Für jene treffen seine Angaben zu, sie sind aber nicht als eine allgemeine, sich auf die Verwachsung bei allen Pflanzen beziehende Regel anzusehen. Eine solche ist allein die eben zitierte von Vöchting zuerst gefundene These.

4. Verwachsung bei Objekten mit Knospe.

Wir haben gesehen, daß die ganze Wundfläche gebräunt ist. Diese wird von dem Callus des Reises zuerst durchbrochen und damit die primäre Vereinigung von Reis und Unterlage bewirkt.

Die Calluswucherung geht weiterhin auf der ganzen Schnittfläche nicht immer gleichmäßig vor sich; es sind einige Stellen ohne erkennbaren Grund bevorzugt, so daß an mehreren Punkten die gebräunte Schicht durchbrochen und an der Verwachsungsfläche festgehalten wird. Diesen Vorgang konnte man besonders gut bei allen

---

[1] a. a. O. S. 1 u. 2.

[2] Herse, Über den Verwachsungsprozeß bei der Veredlung der Obstbäume. Geisenheimer Mitteilungen über Gartenbau 1907.

Cactaceen (Fig. 18 u. 19) und auch bei Pelargonium zonale var. Meteor beobachten (Fig. 20).

Bei den Cacteen, vor allem bei Epiphyllum truncatum, hatte ich Gelegenheit, noch eine zweite Art des sekundären Verwachsungsvorganges zu studieren. Hier wurde die braune Schicht vom Reise aus zuerst durchbrochen, dann von der Mitte aus nach beiden Seiten mehr und mehr herausgedrängt, bis sie nach vollendeter Verwachsung

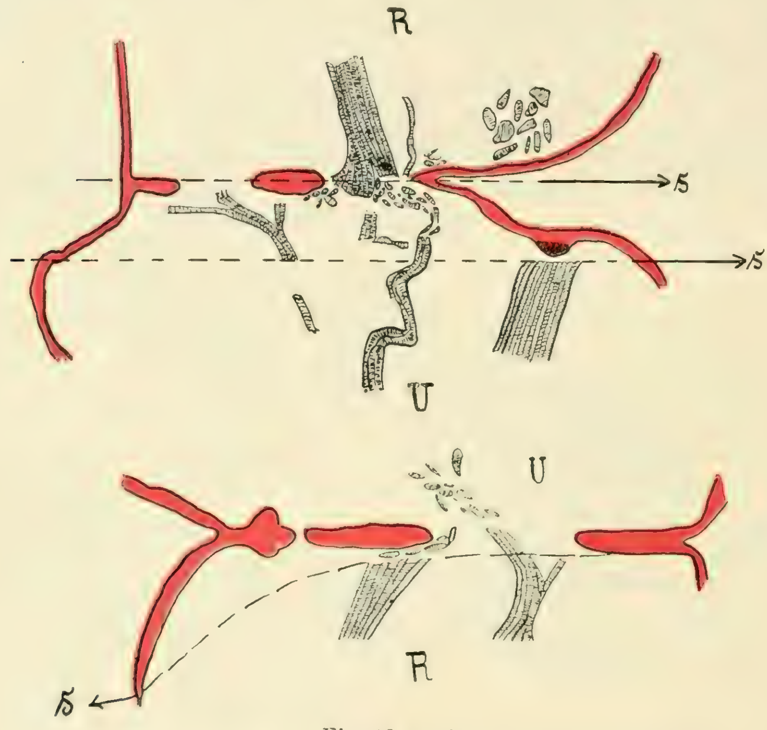


Fig. 18 u. 19.
Durchschnitt durch die Verwachsungszone von Pilocereus sublatus auf Mammillaria meiacantha.

einfach seitlich abgestoßen wurde, ohne daß ein Rest von ihr übrig blieb. Nur an den voluminösen Zellen und den bedeutend größeren Interzellularen, schließlich an dem plötzlichen Aufhören der Gefäße konnte man die genaue Grenze zwischen Mesophyll und dem Wundgewebe feststellen.

5. Verhalten von Objekten ohne Knospe.

Alle bisherigen Ergebnisse bezogen sich auf Pflanzen mit Knospen. Bei ihnen wurde eine Verwachsung vom Reis aus eingeleitet. Anders lagen die Verhältnisse, sobald ich vom Reis alle Knospen entfernt

hatte. Auf der Wundfläche der Unterlage und auch auf der des Reises wurde Callus ausgebildet, freilich nur in ganz beschränktem Maße. Beim Reise hörte bald die Bildung von Wundgewebe vollständig auf, und innerhalb kurzer Zeit war durch einen Verwesungsprozeß, der, vom Marke des Reises ausgehend, auf die übrigen Gewebe übergriff, das ganze Reis vernichtet. Oft wurde auch die Unterlage infiziert, die dann jedoch nur bis zum nächsttieferen, unter der Veredlungsstelle liegenden Internodium abstarb.

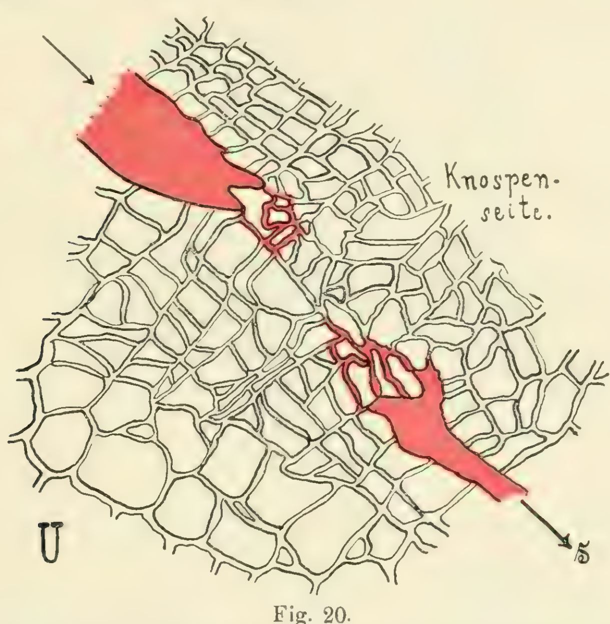


Fig. 20.
Durchschnitt durch die Verwachsungszone von Pelargonium zonale var. Meteor.

Daraus folgt, daß allein die Knospe die zur Verwachsung nötige kräftige Callusbildung bewirkt und damit die endgültige Vereinigung von Reis und Unterlage sicherstellt.

6. Verhalten der Objekte mit eingesetztem Mittelstück.

Ebenso gering, wie bei den Objekten ohne Knospe, war die Callusbildung auf den Mittelstücken, die sowohl bei Pelargonium zonale var. Meteor als auch bei Bryphyllum calycinum zwischen Reis und Unterlage eingeschaltet wurden. Erst wenn das Reis mit Knospe an dem Mittelstück angewachsen war, vereinigte sich dessen Callus mit dem der Unterlage. Hatte das Reis aber keine Knospe, dann fand keine Vereinigung der drei Teile statt, sondern sie verhielten sich so, wie es oben für die knospenlosen Objekte geschildert worden ist.

Dadurch ist der bestimmende Einfluß der Knospe bei der Verwachsung von Reis, Mittelstück und Unterlage bewiesen.

§ 3. Pfropfstellen von Monokotyledonen.

Von den eben geschilderten Verwachsungsverhältnissen bei Dikotyledonen weichen die der Monokotyledonen nur wenig ab (Fig. 21).

Die Wundoberfläche bräunt sich; darunter wird häufig, jedoch nicht immer ein Meristem ausgebildet, das die Vereinigung von Reis und Unterlage bewirkt (Fig. 22).

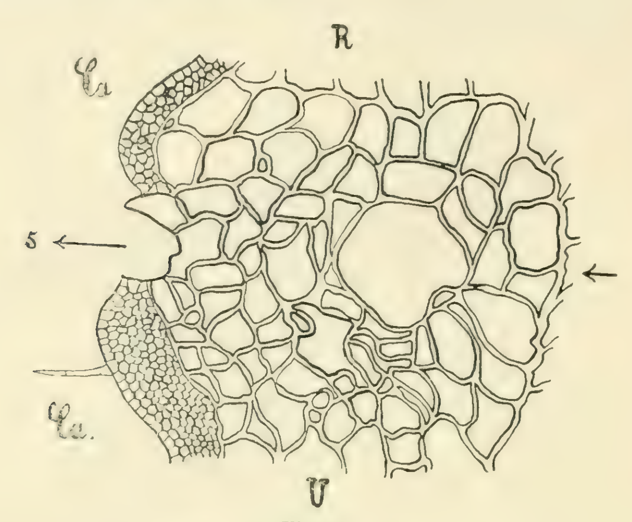


Fig. 21.
Pfropfstelle von Callisia.

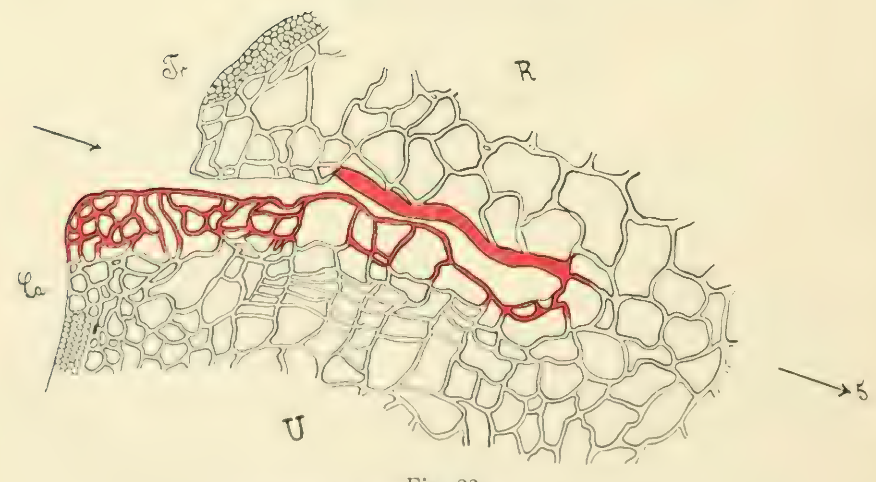


Fig. 22.
Verwachsung von Callisia auf Tradescantia.

Es können aber auch, und dies ist der weit häufigere Fall, einzelne der unter der braunen Schicht liegenden Zellen so ihr Volumen

vergrößern[1]), daß die gebräunte Schicht schließlich gesprengt und die Vereinigung von Reis und Unterlage hergestellt wird (Fig. 23).

Das Vorherstehende bezieht sich nur auf Veredlungen, wo das Reis mit Knospe versehen war. Fehlte diese, so war weder die Bildung eines Meristems noch die Streckung der Zelle wahrzunehmen.

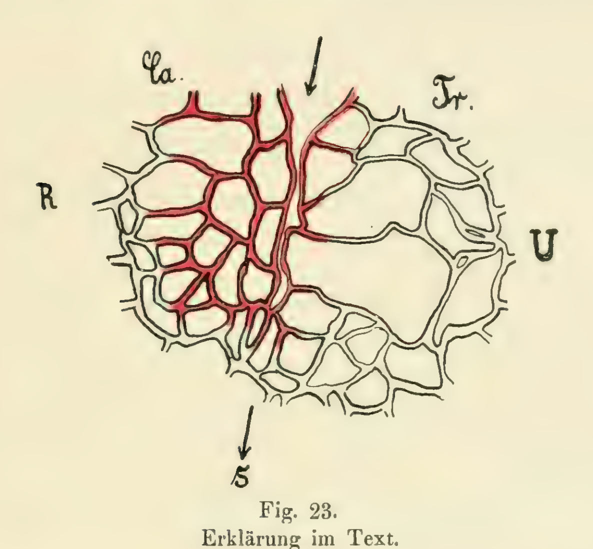


Fig. 23.
Erklärung im Text.

Daraus ergibt sich, daß auch bei Monokotyledonen eine Verwachsung

1. nicht unmöglich ist, weil ihr Grundgewebe teilungsfähig und wachstumsfähig ist;
2. abhängt von der aufgepfropften Knospe.

Fassen wir das Ergebnis der Untersuchung noch einmal zusammen, so ist hervorzuheben:

I. 1. Bei der Kartoffel ist die Korkbildung an den Wundflächen eine Folge des Luftzutritts, im Speziellen des in der Luft enthaltenen Sauerstoffs.

2. a. Der an der Schnittfläche gebildete Zucker wird teils abgeleitet, teils zum Aufbau des Wundperiderms verwendet.

b. Die Einwirkung der Luft allein gibt den Anstoß zur Verzuckerung der Stärke.

3. Durch Berührung mit der Luft tritt die Bräunung in den durchschnittenen Zellen auf.

---

[1]) Ähnliches berichtet auch E. Küster a. a. O. S. 94 u. f. und S. 157.

4. Das Zusammenwachsen zweier Kartoffeln ist zwar nicht durch das Vorhandensein der Knospe bedingt, es wird aber durch vorhandene Augen wesentlich beschleunigt.
5. Niedrige Temperatur vermag selbst bei Objekten mit Knospen das Zusammenwachsen zu verhindern.
6. Die Gefäßbündel sind für das Eintreten einer Verwachsung bei Solanum tuberosum bestimmend.

II. 7. Auch bei Dahlia variabilis, Sauromatum guttatum und Boussingaultia baselloides ist die Verwachsung unabhängig von der Knospe.

8. Bei oberirdischen Organen dagegen ist das Vorhandensein einer Knospe am Pfropfreis durchaus notwendig zur Verwachsung.
9. Junge, noch im Wachstum begriffene Blätter können an Stelle von Vegetationspunkten das Anwachsen des Pfropfreises bewirken; 8. und 9. können wir zusammenfassen:

   Der bestimmende Einfluß embryonaler Gewebe auf das Anwachsen der Reiser bei oberirdischen Stammorganen ist unverkennbar.
10. Der erste Anstoß zur Vereinigung der Pfropflinge geht bei oberirdischen Organen vom Reis aus.
11. Bei Monokotyledonen ist die Verwachsung
    a) möglich, soweit ihr Grundgewebe teilungsfähig ist;
    b) abhängig von dem Vorhandensein eines Vegetationspunktes am Pfropfreis.

Über die im Pflanzengewebe nach Verletzungen auftretende Wundwärme.

Von **Harry Tiessen.**

(Mit Tafel I, II.)

A. Einführung.

In den „Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig" befindet sich im Jahre 1896 IV. Bd. S. 384—89 ein kurzer Bericht W. Pfeffers über Untersuchungen von H. M. Richards aus dem botanischen Institute zu Leipzig, welche sich mit der Steigerung der Atmung und mit der Wärmeproduktion nach Verletzung von Pflanzengeweben beschäftigen. Die Originalarbeiten selbst sind in den „Annals of Botany" erschienen: 1896 „The respiration of Wounded Plants"; 1897: „The Evolution of Heat by Wounded Plants."

In der ersten Arbeit stützt Richards durch zahlreiche Experimente die bereits von Boehm 1887 und Stich 1891 konstatierte Tatsache, daß nach Verletzung von Pflanzen die Kohlensäureabgabe, folglich, wie er schlechthin annimmt, die Atmung wesentlich gesteigert wird. In der zweiten Arbeit weist er nach, daß Verletzungen im Pflanzengewebe mit erhöhter Lebenstätigkeit eine Temperaturzunahme hervorrufen. Die Arbeit begnügt sich mit einer Feststellung des Effektes und erklärt ihn lediglich aus erhöhter Atmung.

Da es möglich ist, diese Versuche unter größeren Vorsichtsmaßregeln und beim Fortschritt der Hilfsmittel mit einer verfeinerten Apparatur auszuführen, beauftragte mich Herr Professor Dr. Mez, über diese Erscheinung zu arbeiten.

Für das liebenswürdige und fördernde Interesse, das Herr Professor Dr. C. Mez meiner Arbeit stets entgegenbrachte, bin ich ihm zu großem Danke verpflichtet.

B. I. Die Erscheinung der Wundwärme.

a) Versuchsanordnung und Resultate von Richards.

Im Jahre 1887 ist zum erstenmale von Boehm[1]) der Nachweis geliefert worden, daß Verletzungen von Pflanzen eine erhöhte Atmung zur Folge haben, und daß dieselbe lediglich durch den Wundreiz und nicht etwa durch erleichterte Sauerstoffzufuhr bedingt wird. Später ist diese Frage von Stich[2]) und in der vorher genannten Arbeit von Richards untersucht, welche beide die Richtigkeit der Boehmschen Versuche und ihrer Deutung bestätigen. Alle drei Autoren sind sich darüber einig, daß durch Verletzungen die Pflanze in einen Zustand erhöhter Lebenstätigkeit versetzt wird. Auf die Möglichkeit, daß mit der Steigerung der Lebensfunktionen auch die Wärmeproduktion, und zwar vorwiegend in der Nähe der Verletzungsstelle, zunimmt, hat zum erstenmale Pfeffer[3]) in seinen „Studien zur Energetik der Pflanzen" hingewiesen. Dieser Gedanke liegt der Richardsschen Arbeit (97) zugrunde, in welcher er tatsächlich eine Wärmeentwicklung im Pflanzengewebe nach Verletzungen feststellt.

Es gelingt ihm dies auf zwei Wegen. Die eine Methode, die in roher Weise den Effekt veranschaulicht, besteht darin, daß er zwei Glasglocken, die mit einer gegen äußere Einflüsse schützenden Baumwollschicht umgeben sind, mit Kartoffeln (5—600 gr) anfüllt; nachdem Temperaturgleichheit eingetreten ist, werden die Kartoffeln in der einen Glasglocke in 2 bis 6 Stücke zerschnitten. Die sukzessiven Ablesungen der Thermometer beider Glocken ergeben dann eine Temperaturerhöhung in dem Gefäß mit den verletzten Kartoffeln. Für Absorption der produzierten Kohlensäure durch Kalilauge war ebenso gesorgt wie für Zufuhr frischen Sauerstoffes. Es ist klar, daß diese Versuchsanordnung, mit welcher auch nur die geringere Anzahl von Experimenten ausgeführt wurde, keinen Anspruch auf präzise Resultate erheben kann. Immerhin konnte Richards die Temperaturzunahme in Kurven aufzeichnen, und es ergab sich, daß ihr Maximum, welches bei den verschiedenen Objekten zwischen 1° und 3,5° C. schwankt, nach zirka 24 Stunden eintritt. Danach fällt die Kurve in 2 bis 3 Tagen bis zur Nullage ab. Die Höhe der produzierten Wärme (1—3°) ist bei Verwendung von 20 bis 30 Objekten zu gleicher Zeit nicht auffallend.

Die zweite Möglichkeit zur Demonstration des Temperaturanstiegs nach Verletzungen ist durch die Verwendung von Thermonadeln ge-

[1]) Bot. Zeitung 1887 S. 686, Bot. Zentralblatt 1892 Bd. 2 S. 900 ff.

[2]) Flora 1891. [3]) Abhandl. der Kgl. Sächs. Ges. der Wiss. Leipzig, Bd. XVIII S. 201, Fußnote 2.

geben. Die Vorzüge dieser Methode bestehen darin, daß es möglich ist, an einzelnen Objekten subtile Temperaturveränderungen nachzuweisen. Noch bedeutender ist der bei Anwendung dieser Methode sich ergebende Vorteil, daß das untersuchte Objekt, für sich allein beobachtet, all den Fehlerquellen entzogen ist, die mit der Anhäufung von zersetzlicher Masse gegeben sind. Insbesondere sei darauf hingewiesen, daß bei solcher Anhäufung mit lebhafter Kohlensäure- und Wärmeproduktion verbundene, durch Mikroorganismen hervorgerufene Zersetzungserscheinungen möglich und keineswegs selten sind. Daß das elektrische Meßverfahren bereits 1838 zum erstenmale von A. van Beek und C. A. Bergsma[1]) und später öfters zu ähnlichen Zwecken eingeschlagen wurde, darf als bekannt vorausgesetzt werden. Richards benutzte für seine Untersuchungen Thermonadeln der Verbindung: Eisen — Neusilber, deren zusammengelötete Spitzen in löffelartiger Form zu einer Breite von 6 mm ausgeklopft wurden, da sich spitze Thermoelemente leicht aus dem Gewebe befreiten. Die freien Enden der Thermonadeln waren durch Klemmschrauben mit den Kupferdrähten des Galvanometers verbunden. Das verwendete Strommeßinstrument war ein Nadelgalvanometer mit Spiegel und Fernrohrablesung. Die Untersuchungen an den Objekten selbst wurden in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre ausgeführt, doch ist in der Arbeit nichts Näheres über die Größe oder die Beschaffenheit des gegen die Umgebung abgeschlossenen Untersuchungsraumes gesagt. In die Objekte hinein wurde sodann ein Schnitt gemacht und „in die Basis des so entstandenen Schnittspaltes die Thermonadel eingeführt". Mit diesen Hilfsmitteln erhielt Richards Temperaturkurven, die nach etwa 24 Stunden ihr Maximum aufwiesen und im Verlauf von zwei Tagen abfielen.

Auf eine eingehende kritische Besprechung der vorherbeschriebenen Methode und ihrer Einzelheiten kommt Verfasser nach Angabe seiner eigenen Versuchsanordnung und der mit ihr erzielten Resultate später zurück.

b) Eigene Methode; die mit ihr ausgeführten Versuche und deren Ergebnis.

Elektrische Apparatur.

Sämtliche Versuche über Wundwärme wurden in dem mit nur einer isolierten Tür versehenen, sonst von massiven Mauern umgebenen Dunkelraum des botanischen Instituts zu Königsberg i. Pr. ausgeführt. Dieser Raum, dessen Größe (1,40 · 3,35 · 4,0 m) und Einrichtung in

[1]) Observations thermo-électriques sur l'élévation de la tempér. d. fleurs. Utrecht.

jeder Hinsicht für die Experimente genügte, wurde gewählt, um die Untersuchungen in einer Umgebung auszuführen, deren Temperatur möglichst konstant blieb. In der Tat änderte sich die Temperatur in dem maximalen Falle eines Experimentes von 50 Stunden Dauer um 0,8° (fallend), eine Änderung, die wegen der noch besonders angebrachten starken Wärmeisolation der Apparatur belanglos war. Auch die Lage des Dunkelraums in dem Flügel des Instituts, welcher verhältnismäßig wenig begangene Herbarräume enthält, begünstigte die Versuche insofern, als das Galvanometer nur selten schwachen Erschütterungen ausgesetzt war. Schließlich war dies der einzige Raum, der vor Insolation und schwankender Lichtintensität absolut geschützt war.

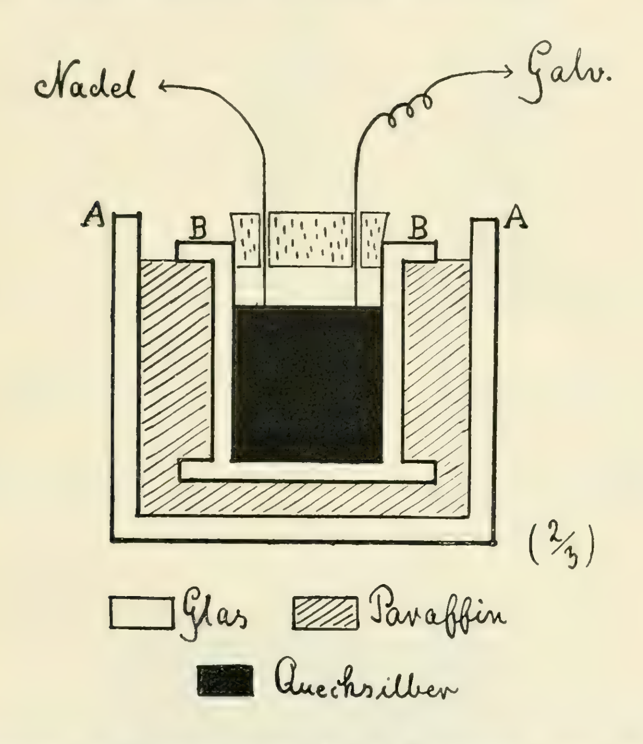
α) Galvanometer.

Als Strommeßinstrument wurde ein Drehspulgalvanometer von Siemens und Halske benutzt, das auf einer in die Wand eingelassenen Konsole stand. Da diese Galvanometer gegen störende magnetische Einflüsse praktisch völlig unempfindlich sind, können Nullpunktsverlagerungen nur eintreten, wenn der Aufhängefaden einer zu starken Torsion ausgesetzt oder das Galvanometer vorwiegend in einer Ausschlagsrichtung beansprucht wird. Das geschah bei den vorliegenden Messungen nicht, da die Skala nur in sehr geringer Ausdehnung bespielt wurde. Um die Empfindlichkeit zu vergrößern, wurde für die Dauer der Untersuchungen der innere Widerstand ausgeschaltet.

Dem Galvanometer gegenüber in einer Entfernung von 1 Meter stand auf einer zweiten Konsole der Apparat, welcher die Skala und den beleuchteten Spalt trug, dessen Bild durch eine Linse auf dem Galvanometerspiegel entworfen und von dort zur Skala reflektiert wurde. Vom Galvanometer führten über Isolierknöpfe zwei Kupferdrähte zu einem Hebelkontakt, der sich aber für meine Versuche als unbrauchbar erwies, da die Öffnungs- und Schließungsströme einen Ausschlag bis zu 5 Skt (Skalenteilen) hervorriefen. Da man ferner an den Kontaktstellen der Kupferdrähte mit den Messingklemmen des Galvanometers eine thermoempfindliche Verbindung hat, und schon die Annäherung der warmen Hand an eine dieser Kontaktstellen in dem geschlossenen Kreise, Kontakt—Galvanometer, einen nicht unbeträchtlichen Thermostrom hervorruft, mußte das Galvanometer gegen Wärmeeinflüsse geschützt werden. Es geschah dies dadurch, daß das ganze Galvanometer mit einer dicken Watteschicht umwickelt und dann mit einer Kiste überstülpt wurde, welche nur ein größeres Loch für das Lichtbündel und zwei kleinere für die Zuleitungsdrähte aufwies.

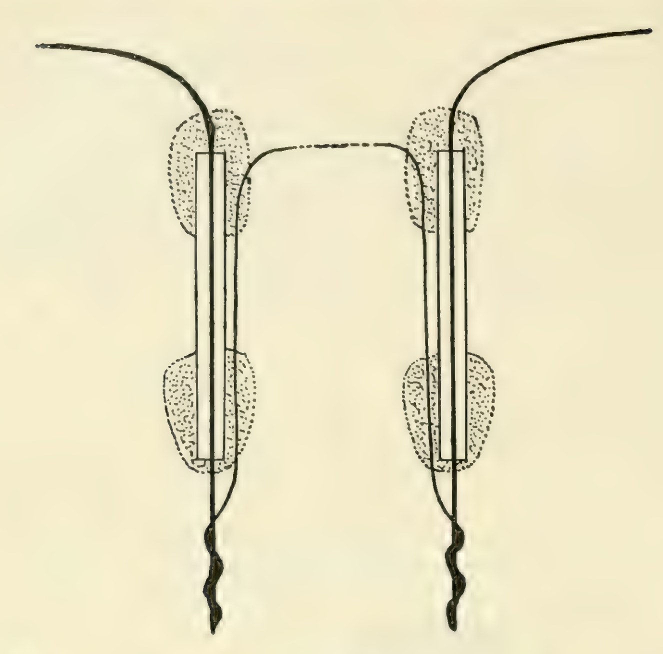
β) Der Hg-Kontakt und die Thermonadeln.

Da sich ein Metallhebelkontakt als unbrauchbar erwiesen hatte, andererseits beim Eintauchen der amalgamierten Kupferdrahtenden in reines Hg sich ein kaum meßbarer Ausschlag von nicht ganz 0,25 Skt zeigte, erschien die Anwendung eines Quecksilberkontaktes am geeignetsten. Da aber auch die Verbindung von Hg mit amalgamierten Drahtenden thermoempfindlich ist, mußte das Quecksilber möglichst vor Temperaturänderungen geschützt werden. Es wurden daher zwei Gefäße folgender Anordnung hergestellt:



Zwischen zwei Glasgefäßen A und B befindet sich als wärmeisolierende Schicht Paraffin und in dem innersten Glasgefäß Quecksilber. Das Glasgefäß B ist außerdem mit einem Kork verschlossen, der zwei Löcher für die zugeführten Drahtenden enthält.

Es wurde darauf die Eichung der Thermonadel Kupfer-Konstantan vorgenommen, die ich zu den Vorversuchen gebrauchen wollte. Da sich aber ihre Empfindlichkeit nur auf $0{,}0097^{0}$ pro Skt herausstellte, — das ist etwa $^{1}/_{100}{}^{0}$ — schien es angebrachter, eine Nadel von größerer Empfindlichkeit zu benutzen. Ich stellte mir daher eine Thermonadel aus Eisen und Konstantandraht zusammen, eine Verbindung, welche den größten thermoelektrischen Effekt aufweist.

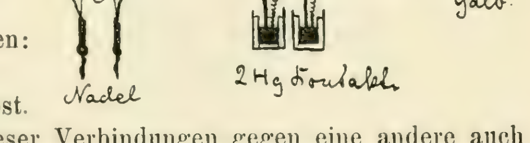


Vergrößerte Thermonadel.

Die Lötstellen, an welchen der 0,5 mm dicke Konstantandraht um den sehr wenig stärkeren Eisendraht herumgeführt war, wurden mit einer dünnen Schicht von Mastixfirnis überzogen, die öfters erneuert wurde. In dieser schraubenzieherartigen Verbindung saßen die Nadeln im Pflanzengewebe fest darin, ohne sich zu lockern oder gar herauszugleiten. Zur genügenden Isolierung wurde, wie es die Abbildung zeigt, der Eisendraht durch Glasröhrchen geführt, deren offene Enden mit einem breiten Ring aus Siegellack umgeben und verschlossen waren. Der starke Siegellacküberzug schützte die Drähte vor einer Berührung mit den warmen Händen. Darauf wurde eine Eichung dieser bedeutend empfindlicheren Nadel vorgenommen, die aber nach einer größeren Reihe von Beobachtungen zu unregelmäßigen Resultaten und einer diskontinuierlichen Empfindlichkeitskurve führten.

Die Ursache konnte einmal in ganz geringen Temperaturdifferenzen liegen; denn in der Eichungsschaltung: Nadel — Hg-Kontakt — Galvanometer hat man es praktisch mit drei thermoeffektiven Metallverbindungen zu tun:

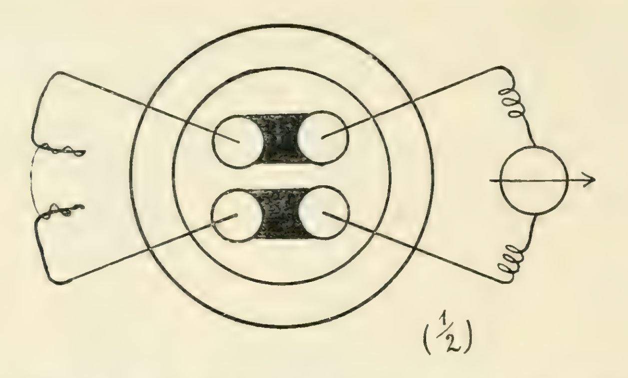
1) am Galvanometer Messingklemmen – Kupfer
2) an beiden Hg-Kontakten: Hg — Cu
3) am Thermoelement selbst.



Sobald irgend eine dieser Verbindungen gegen eine andere auch nur um Zehntelgrade in der Temperatur verschoben ist, zeigt das Galvanometer durch störende Ausschläge diese Unstimmigkeit an.

Am nächsten lag daher die Möglichkeit, daß in der Verwendung zweier Hg-Kontakte in getrennten Gefäßen ein Temperaturfehler liegen könnte. Es mußte daher der Quecksilberschalter in einem einzigen Gefäß untergebracht werden, was in folgender Weise geschah.

Zwei U-Röhren waren, wie es die folgenden Figuren zeigen, parallel miteinander verschmolzen, ohne untereinander in Kommunikation zu stehen. Sie waren mit Hg gefüllt und wurden als Kontakt gebraucht, wie die Skizze es erläutert.



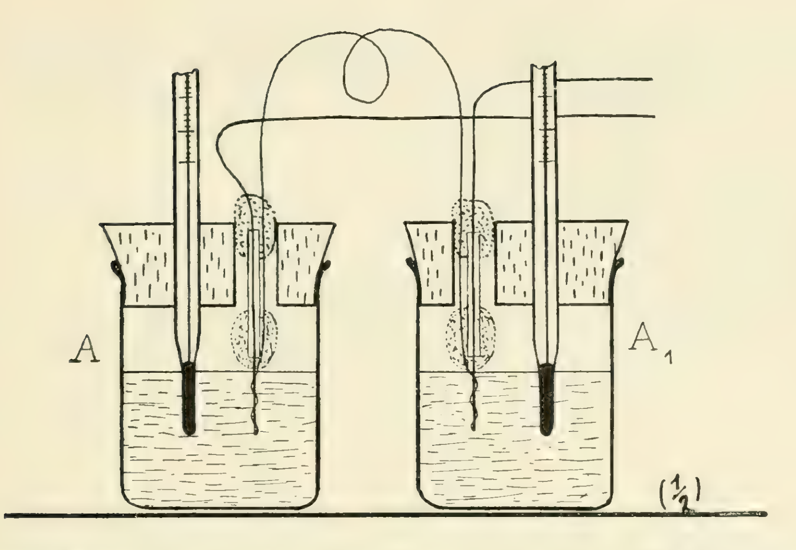
Diese zwei U-Röhren standen in einem mit Hg gefüllten Gefäß B, das seinerseits durch eine isolierende Paraffinschicht von dem Gefäß A getrennt war. Die Röhren waren mit durchlöcherten Gummistopfen verschlossen. Schließlich wurde das ganze große Gefäß A noch in Watte verpackt und in eine kleine Holzkiste getan, so daß für die Wärmeisolation die weitgehendsten Vorsichtsmaßregeln getroffen waren; da das Galvanometer ebenfalls in Watte gepackt war, konnten nunmehr Temperaturdifferenzen nicht auftreten.

Ferner konnte eine Fehlerquelle darin liegen, daß die Gefäße, in denen die Eichung der Nadeln vorgenommen wurde, zu groß und offen waren. Es treten infolgedessen schnelle Schwankungen in den Temperaturverhältnissen des Wassers ein, die von der Nadel und dem Galvanometer viel schneller registriert werden, als von den Thermometern und daher fehlerhafte Ablesungen veranlassen. Die Eichung wurde nunmehr folgendermaßen vorgenommen:

γ) Die Eichung der Thermonadeln
(siehe folgende Abbildung).

Die Gefäße A und A_1 wurden bis zu 3/4 ihres Volumens mit Wasser gefüllt und mit großen, dreifach durchlöcherten Korkstopfen verschlossen. Durch diese Löcher wurden dann die Thermometer und Thermonadeln gesteckt, während das dritte Loch für eine Pipette zur Zugabe erwärmten Wassers frei blieb. Wurden die Gefäße z. B. abends mit Wasser gefüllt, so war am nächsten Morgen nach Ausgleich sämtlicher Temperaturdifferenzen die Nullage eingetreten.

Darauf wurden in eines der Gefäße einige Tropfen erwärmten Wassers gegeben, die Flüssigkeit umgerührt und nach 1 bis 2 Minuten zuerst das Galvanometer und darauf beide Thermometer abgelesen. Zur Verwendung kamen zwei Celsiusthermometer mit Zehntelgradeinteilung, so daß Hundertstel eines Grades bequem geschätzt werden konnten. Es wurde nur mit steigender Quecksilberkapillare beob-



achtet wegen des „Hakens“ der fallenden Kapillare. Nach den zweitägigen Eichungsbeobachtungen hatte keine Nullpunktsverlagerung stattgefunden.

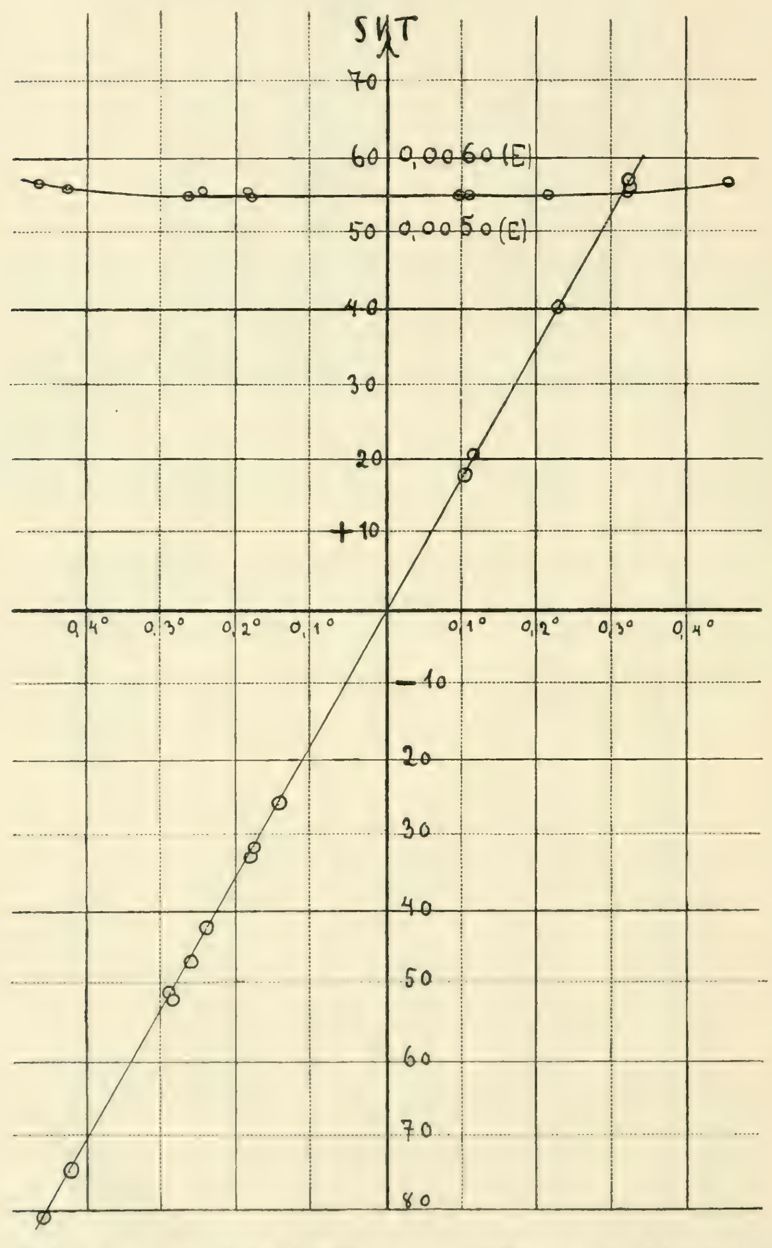
Resultate der Eichung vom 9. und 10. März 1911.

Corr. — 0,03 Therm. I.	Corr. — 0,02 Therm. II.	Korrigierter Unterschied beider	Galvanometer	E pro SKT
		9. März		
10,70	10,47	0,22	+ 40,—	0,0055
11,38	10,80	0,57	+ 98,—	0,0058
9,04	9,49	0,46	— 81,—	0,0057
9,51	9,79	0,29	— 50,5	0,0057
12,01	12,18	0,18	— 32,—	0,0056
10,75	10,98	0,24	— 42,5	0,0056
10,83	11,24	0,42	— 75,—	0,0056
11,14	11,31	0,18	— 33,—	0,0055
11,59	11,44	0,14	— 26,—	0,0054
		10. März		
11,89	11,56	0,32	+ 57,—	0,0056
11,88	11,77	0,10	+ 18,—	0,0055
10,30	10,18	0,11	+ 20,05	0,0055
11,40	11,65	0,26	— 47,—	0,0055
11,69	11,96	0,28	— 52,—	0,0054

Aus dieser Tabelle ergibt sich als durchschnittliche Empfindlichkeit:

E = <u>0,0055°</u> pro <u>Skt</u> (Richards 0,07).

Trägt man die Temperaturdifferenz als Abszisse und den Ausschlag des Galvanometers als Ordinate auf, so müßten die so gewonnenen Punkte auf einer geraden Linie liegen.



Trägt man ebenfalls die Temperaturdifferenz als Abszisse, aber die zu jeder Differenz gehörige Empfindlichkeit E als Ordinate auf,

so erhält man eine schwach gekrümmte Kurve, deren Scheitel einer geraden Linie sehr nahe kommt. Dieses ist in der Abbildung S. 62 veranschaulicht.

Die Resultate aus den Eichungen zeigen bis auf zwei eine gute Übereinstimmung. Da jedoch während der Ablesung des Thermometers und der Schätzung der Hundertstel Grade das bedeutend empfindlichere Thermoelement minimalste Schwankungen durch das Galvanometer registriert, wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate eine Korrektion der Resultate durch Bestimmung der empirischen Konstante vorgenommen, um kleine Unstimmigkeiten zu beseitigen. In der Gleichung $y = ax$, welche die analytische Form für eine grade Linie darstellt, berechnet man die Konstante a aus der Gleichung:

$$a = \frac{\Sigma y_n x_n}{\Sigma x_n^2}$$

wo n die Anzahl der Beobachtungen und x und y die voneinander abhängigen beobachteten Werte bedeuten. Als y wurde wegen der größeren Genauigkeit der Galvanometerausschlag genommen, als x die Differenz der Thermometer. Als rechnerische Resultate erhält man:

x	y	xy	x^2	Korr. Thermometer Differenz	Korr. Empfindlichkeit E
22	40	880	484	0,222	0,0055
57	98	5586	3249	0,544	55
46	81	3726	2116	0,450	55
29	50	1450	841	0,281	56
18	32	576	324	0,180	56
24	42	1008	576	0,236	56
42	75	3150	1764	0,416	55
18	33	594	324	0,183	55
14	26	364	196	0,144	55
32	57	1828	1024	0,316	55
10	18	180	100	0,100	55
11	20	220	121	0,111	55
26	47	1222	676	0,266	56
28	52	1456	784	0,288	55

$$\Sigma xy = 22236 \quad \Sigma x^2 = 12579$$

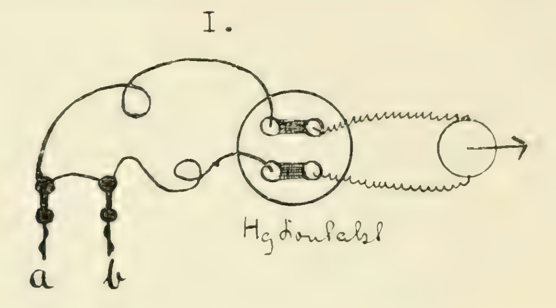
$$a = \frac{\Sigma x_n y_n}{\Sigma x_n^2} = \frac{22236}{12579} = 1{,}8\,; \quad \underline{a = 1{,}8}$$

Aus den korrigierten Empfindlichkeitsmessungen für die Thermonadel Eisen-Konstantan ergibt sich ebenso wie aus den unkorrigierten:

$$\underline{E = 0{,}0055^0 \text{ C pro Skalenteil}} \text{ oder}$$

$$1 \text{ Skt} = \frac{55^0}{10000} = \frac{1^0 \text{ C}}{182}$$

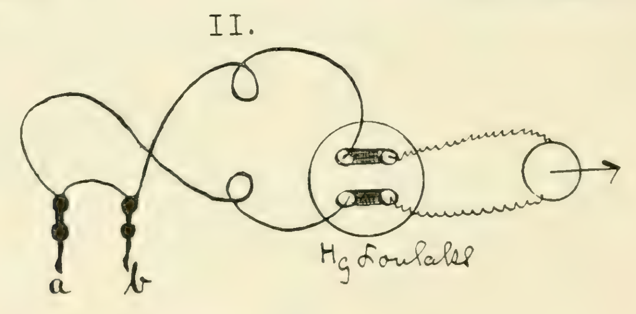
Schließlich möge hier noch die Schaltskizze folgen, die für die Experimente unentbehrlich ist:



Skala



Lötstelle a kälter als b. Lötstelle a wärmer als b.



Skala



Lötstelle a wärmer als b. Lötstelle a kälter als b.

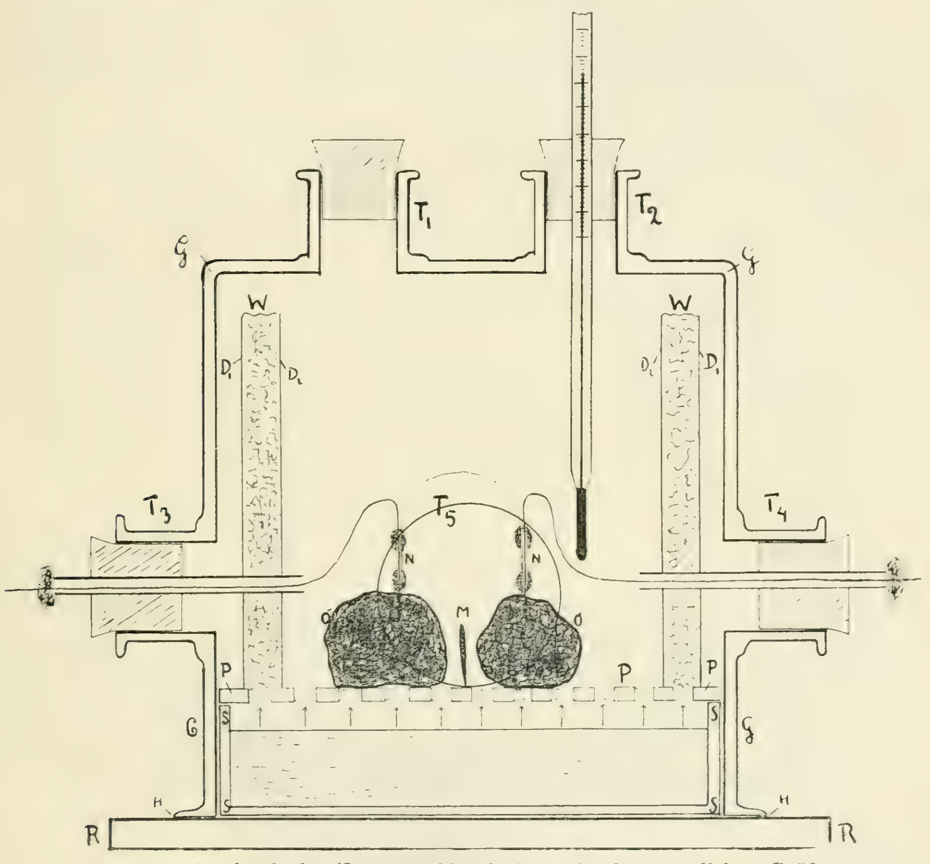
Eine zweite Thermonadel, die im Verlaufe der Untersuchung erforderlich wurde, stellte ich ebenfalls aus Eisen-Konstantan her. Die Eichung, welche in derselben Weise vorgenommen wurde, wie es vorher beschrieben ist, ergab eine Empfindlichkeit E = 0,00547°, so daß auch diese zweite Nadel die Empfindlichkeit

E = 0,0055° C. pro Skt besitzt.

δ) Einrichtung der Versuchsglasglocke.

Für die Untersuchungen selbst ist eine mit Wasserdampf gesättigte Atmosphäre unbedingt notwendig. Es müssen die Versuche daher in einem abgegrenzten Raum vorgenommen werden, dessen Luft man

auf den praktisch erreichbaren Grad von Sättigung mit Wasserdampf bringen kann. Zu diesem Zwecke wurde folgender Apparat nach Angabe des Verfassers aus Glas angefertigt:



Querschnitt durch die Versuchs-Glasglocke. $^3/_{10}$ der natürlichen Größe.

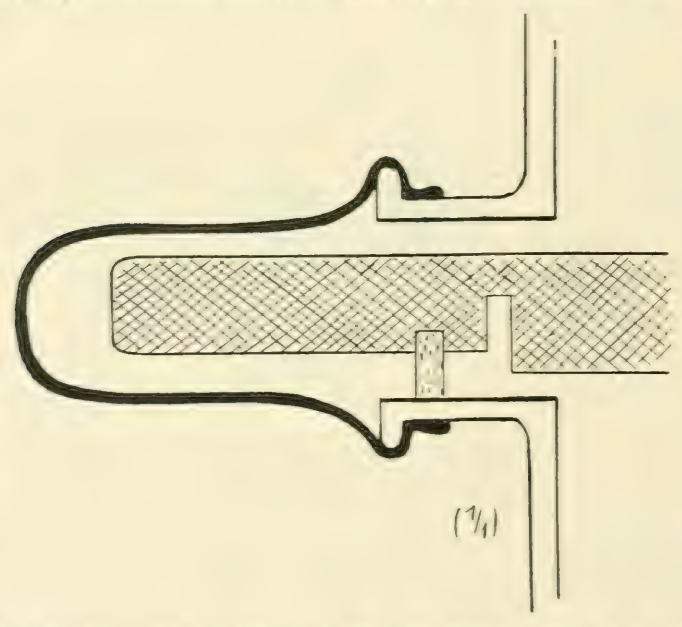
Auf einer angeschliffenen Glasplatte R ruht eine fünffach tubulierte Glasglocke G. Von diesen Tuben dienen die beiden oberen (T_1 T_2) zur Einführung von Thermometern. Die seitlichen Tuben (T_3 T_4) enthalten in zwei Glasröhren die Ableitungsdrähte der Thermonadel, während der fünfte Tubus, welcher in der Figur außerhalb der Zeichnungsebene auf der Vorderseite der Glasglocke liegt, größer als die übrigen ist und zur Einführung des zum Schneiden dienenden Mikrotommessers M dient. Dieser Tubus ist hinsichtlich seiner Lage zum Untersuchungsobjekt O in der Figur durch den Kreis T_5 dargestellt.

Innerhalb der Glocke, auf der Glasscheibe R, befindet sich eine Schale S, welche das zur Verdunstung bestimmte Wasser enthält. Bedeckt wird diese Schale von einer mit 70 Löchern versehenen Glas-

platte P, auf welcher die Versuchsobjekte liegen. Es kann also durch die große Anzahl der Löcher eine unbehinderte Verdunstung stattfinden.

Bei den ersten Versuchen stellte es sich heraus, daß es nötig war, für eine schnellere Sättigung der Luft mit Wasserdampf zu sorgen. Es wurde daher die Glasglocke mit feuchtem Fließpapier ausgekleidet, später aber aus praktischen Gründen ein Wattehelm konstruiert. Zwischen zwei großmaschige Drahtgitter D_1 und D_2 war eine zirka 1.5 cm starke Watteschicht gelegt, die mit Wasser getränkt wurde. Dieser Wattehelm führte bis auf die Breite des Tubus T_5 um das ganze innere Lumen der Glocke.

Für einen luftdichten Abschluß der Glocke gegen die äußere Umgebung war hinlänglich gesorgt. Die Tuben 1 bis 4 waren mit Gummistopfen verschlossen und über den Tubus 5, wie es folgende Figur zeigt, eine Gummihaube in Gestalt eines großen Fingerlings übergezogen, in welcher der Stiel des Operationsmessers lag.



Der Glockenrand, welcher auf die Platte R aufsetzt, wurde mit Exsiccatorfett eingerieben. Nur an den beiden Stellen E, wo die Glasröhre mit dem Draht der Thermonadel die Gummistopfen der beiden Tuben T_3 und T_4 durchsetzt, blieben die Glasröhren bei einigen Versuchen unverschlossen, um für die nötige Sauerstoffzufuhr zu sorgen. Über die offenen Enden der 3 mm im Durchmesser starken Glasröhren war angefeuchtete Watte gelegt, um die event. einströmende Luft schon mit Feuchtigkeit zu beladen.

ε) Orientierende Versuche. (No. 1—5, 7, 8.)

Die ersten Versuche mußten bei den empfindlichen Hilfsmitteln lediglich dazu dienen, Fehlerquellen, die außerhalb der Apparatur liegen, aufzudecken, um die Bedingungen zu präzisieren, unter welchen der reine Wundwärmeeffekt durch die Nadeln registriert wird. Selbstverständlich müssen die Versuche in einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre vorgenommen werden; denn sonst würde durch den infolge der Verletzung austretenden Zellsaft ein Verdunstungs-Wärmeverlust hervorgerufen, welcher den gesuchten Wärmeeffekt verschleiern würde.

Das Volumen der zu den Experimenten benutzten Glasglocke beträgt über der Glasplatte P 6840 cm³, wovon gegen 800 cm³ für den Wattehelm abgehen. Die restierenden 6000 cm³ müssen nach den Untersuchungen von Winkelmann über Gasdiffusion durcheinander im Verlauf weniger Stunden mit Wasserdampf gesättigt sein. Nun standen sämtliche Versuchsanordnungen vor dem Schneiden fertig geschaltet und abgedichtet 15—44 Stunden, um Temperaturausgleich und Nullage zu erzielen. In dieser Zeit ist natürlich auch eine Sättigung mit Wasserdampf erreicht, was sich schon äußerlich dadurch bemerkbar machte, daß die Glocke innen stark beschlagen und mit Wassertropfen behaftet war.

Schwankungen des Sättigungsgrades — also Fehlerquellen — können nur bei größeren Temperaturdifferenzen im Innern der Glocke auftreten. Sie betrugen in der Tat 0,06° bis 0,47°, im Falle eines 50stündigen Versuchs 0,8° fallend —, rufen also keinen wesentlichen Fehler hervor; denn es wird sofort beim Sinken des Sättigungskoëffizienten aus dem in der Schale vorhandenen Wasser wieder der Bedarf an Wasserdampf zur Sättigung bezogen. Die weiteren Fehlerquellen förderten die ersten Versuche zutage.

Versuch I (Kartoffel) dauerte 16 Stunden nach dem Schnitt und ergab eine Kurve, die sich durch einen unregelmäßigen Gang und zwei kurze nacheinander auftretende maximale Erhebungen auszeichnete. Während des ganzen Versuchs brannte sowohl die Gasflamme wie die Petroleumlampe, welche den Spalt beleuchtete; auch war der Beobachter fast ständig im Versuchsraum anwesend. Das mußte natürlich eine Temperaturerhöhung im ganzen Raum zur Folge haben, die von den Thermometern im Zimmer und im Glockeninnern zu 2,5° registriert wurden. Daß eine solche Temperaturerhöhung Unregelmäßigkeiten im Kurvengang hervorruft, geht schon daraus hervor, daß das in Watte verpackte Galvanometer nicht so schnell den Temperaturänderungen folgt, wie die Glasglocke und der Hg-Kontakt. Ferner bestätigten Versuch II—V diese Fehlerquelle.

Im Versuch II (Kartoffel) brannte nur am Anfang und am Schluß des 33stündigen Experimentes die Gasflamme. Die Kurve zeigt daher

zwischen der 2. und 30. Stunde einen ziemlich gleichmäßigen und ruhigen Gang, während zu Beginn und Schluß ganz erhebliche Unregelmäßigkeiten auftraten. Das wies auf eine zweite und bei weitem größere Fehlerquelle hin.

Bedeutend mehr nämlich als die Temperaturerhöhung des Raumes an sich ruft die Bestrahlung des Versuchsobjektes mit intensivem Licht starke Unregelmäßigkeiten im Kurvengang hervor, da die Thermonadeln die vom Gaslicht herrührenden Wärmestrahlen äußerst schnell registrieren. Die Nadel im geschnittenen Objekt tut dies in viel höherem Maße als die im ungeschnittenen; denn erstere bedeckt auf der einen Seite nur ein Zellschichtenkomplex von 3—8 mm Dicke, während die zweite allseitig von Gewebe umgeben ist. Will man also den reinen Wundwärmeeffekt durch die Nadeln messen, so ist es nötig, die Versuche in einem absolut dunklen Raum auszuführen. Jedes Licht — insonderheit eine schwankende Lichtintensität, wie es bei Versuchen in diffusem Tageslicht der Fall wäre — würden die Messungen illusorisch machen. Andererseits liegt in dem völligen Mangel an Licht keine Fehlerquelle. Hatten die ersten Versuche gezeigt, daß die Gasflamme nicht benutzt werden darf, so erwiesen die weiteren (III—V), daß auch die im Beleuchtungsapparat brennende Petroleumlampe zu entfernen nötig war. Daher wurde an ihrer Stelle eine größere elektrische Taschenlampe benutzt, die nur im Augenblick der Ablesung Spalt und Skala beleuchtete. Schließlich sei noch erwähnt, daß auch die längere Anwesenheit des Beobachters im Dunkelraum nicht ohne Einfluß auf die Apparatur bleibt, was ebenfalls nachgewiesen werden konnte.

Nachdem durch die ersten Versuche die Bedingungen für m. E. einwandsfreie Experimente gegeben waren, konnte mit den systematischen Versuchen über Wundwärme begonnen werden. Als Versuchsobjekte dienten: Knollen von Solanum tuberosum, Früchte von Pirus malus und Wurzeln von Daucus Carota, Raphanus sativus und Brassica rapa.

ζ) Versuchsausführung.

Um unnötige Wiederholungen zu vermeiden, sei hier der Gang eines Experimentes angegeben. Es wurden zwei Exemplare eines Versuchsobjektes ausgewählt und zwei bis drei Tage zur Annahme gleicher Temperatur im Dunkelraum liegen gelassen. Nachdem die Schale S zu $^{4}/_{5}$ ihres Volumens mit Wasser von zirka 25° C. gefüllt und der Wattehelm mit Wasser derselben Temperatur durchtränkt war, wurde mittels kleiner Holzstäbchen das Versuchsobjekt auf der durchlöcherten Glasplatte P befestigt, während das Vergleichsobjekt lose auf derselben lag. Die Befestigung des ersteren diente lediglich dazu, dem Objekt

im Augenblick des Schneidens eine feste Stütze zu gewähren. Über die Anordnung wurde von einer zweiten Person vorsichtig die Glasglocke mit dem Wattehelm gestülpt, während der Verfasser selbst die beiden Nadeln zirka 1 cm tief in die Objekte einführte. Hierauf wurde in den großen Tubus (T_5) das Operationsmesser gelegt und derselbe mit einer Gummihaube überzogen. Nachdem der Nullpunkt der Skala eingestellt und der Glockenrand H mit Exsiccatorfett eingeschmiert war, wurden die freien Enden der Thermonadeln in den Hg-Kontakt eingeführt. Darauf wurde die ganze Anordnung in den einzelnen Fällen 15—44 Stunden ruhig stehen gelassen, so daß ein gänzlicher Temperaturausgleich und eine genügende Verdunstung stattfinden konnte. Die Nullage war in den meisten Fällen schon nach zwölf Stunden eingetreten, doch blieb die Anordnung stets länger stehen, um die Konstanz der Galvanometerstellung zu beobachten. Nachdem die Temperaturen im Innern der Glocke und im Zimmer abgelesen waren, wurde — beim Lichte der elektrischen Taschenlampe — ein Schnitt in variierender Nähe (2—8 mm) der Nadel geführt, und zwar so, daß ein Stück des Objektes glatt abgeschnitten wurde. Unmittelbar danach wurde die erste Ablesung, nach einer Minute die folgende, nach drei Minuten die dritte, nach fünf Minuten die vierte und weiter bis zur Überschreitung des Maximums alle fünf Minuten Ablesungen gemacht. Nach dem Maximum wurde alle 10—20 Minuten abgelesen und bei Dauerversuchen während des äußerst langsamen Abfallens alle 30—60 Minuten. War bei den Dauerversuchen wieder die Nullage eingetreten, so wurde noch einige Stunden gewartet, ob die Nullage konstant blieb, und dann erst der Versuch auseinandergenommen, um die Entfernung der Schnittflächen von der Nadel, die Größe der Schnittflächen und die Tiefe des Einstiches zu bestimmen. Bei längeren Versuchen wurden alle 6—8 Stunden die Temperaturen kontrolliert und am Schlusse die Versuchsobjekte mit Hilfe der Sudanreaktion einer Prüfung auf Korkbildung unterzogen.

η) Variierende Ruhelage.

Mit Versuch VI sollte die Reihe der Experimente über die Dauer und Größe der Wundwärme beginnen. Nachdem zuvor die gesamte Leitung geprüft und in Ordnung gefunden war, wurde der Versuch VI mit zwei Karotten angesetzt. Am nächsten Morgen stand das Galvanometer auf —5,8 und diese konstante Lage behielt es während des ganzen Tages und des folgenden Vormittages bei. Da diese Abweichung von der Nulllage nach wiederholten Versuchen nicht auf Fehler der Anlage zurückzuführnn war, lag bei der sehr hohen Empfindlichkeit der Thermoelemente (1 Skt = 0,0055°!) die Vermutung nahe, diesen Temperaturunterschied in individuellen Differenzen der

Versuchsobjekte zu suchen. Zur Feststellung derartiger Differenzen, welche bei gleichen äußeren Bedingungen in verschiedenen inneren Zuständen zu suchen wären, wurden einmal Versuche mit zwei verschiedenen Objekten ausgeführt. Sodann wurden einzelne Objekte wie Kartoffeln und Äpfel halbiert und nach Neubildung einer Wundkorkschicht (2—3 Tage) beide Hälften als getrennte Objekte behandelt. Während bei den verschiedenen Objekten niemals absolute Nulllage eintrat und sich die Abweichungen von derselben zwischen 0,3 und 3,8 auf beiden Seiten bewegten (in zwei extremen Fällen 5,8 [VI] 6,6 [XX]), zeigte sich bei den halbierten Objekten stets die erwartete Nullage. Diese Erscheinung ist, soweit Verfasser unterrichtet ist, von ihm in der vorliegenden Arbeit zum erstenmal beobachtet. Richards, dessen Nadel nur $^{1}/_{12}$ der hier angewandten Empfindlichkeit besaß, kannte diese Tatsache nicht, was aus seinen Worten hervorgeht: „die unter denselben Bedingungen gehaltenen Pflanzen variierten niemals in irgend einem bemerkbaren Maße an Temperatur in dem unverletzten Zustand.“ Dagegen hat Richards eine Temperaturdifferenz zwischen lebenden und toten Objekten konstatiert, welche durch die höhere Temperatur des lebenden Objektes hervorgerufen wurde. Es folgt die Tabelle der hierüber angestellten Untersuchungen.

1. Zwei verschiedene Objekte.

Objekt	Galvanometer
2 Kartoffeln (vorjährig)	— 2,8
2 Kartoffeln (diesjährig)	+ 1,0
2 Äpfel (vorjährig)	— 1,1
2 junge diesjährige Rettige	— 3,6
2 Karotten (vorjährig)	+ 1,0

2. Hälften eines und desselben Objektes.

Objekt	Galvanometer
2 Hälften einer vorjähr. Kartoffel	0,0
2 Hälften einer diesjähr. Kartoffel	0,0
2 Hälften einer diesjähr. Kartoffel	0,0
2 Hälften eines diesjähr. australischen Apfels	0,0

Die so ermittelten Resultate weisen also auf vorhandene innere Differenzen unter gleichen äußeren Bedingungen hin. Eine eingehende Untersuchung dieses Gegenstandes ist in der vorliegenden Arbeit nicht beabsichtigt. Doch würde eine solche, da sich die Beobachtungsmethode leicht verfeinern läßt, vielleicht interessante Aufschlüsse hinsichtlich der Abhängigkeit dieser Erscheinung von den einzelnen Lebensäußerungen der Pflanze zutage fördern.

9) Versuche über Größe und Dauer der Wundwärme an lebenden Objekten[1]).

Versuch VI. Zwei Karotten.

Nach 44stündiger Beobachtung der konstanten Ruhelage — 5,8 wird auf der einen Seite der Nadel ein Schnitt in 5 mm Entfernung geführt. In den ersten 10 Minuten erfolgt ein rascher Anstieg bis zu 4,3 SKT, nach weiteren 10 Minuten bis 4,5; darauf für 30 Minuten ein Rückgang auf 4,0, sodann erneutes Steigen bis zum Maximum von 4,6. Während der nächsten 12 Stunden bleibt die Kurve auf einer durchschnittlichen Höhe von 4,5 bis 4,0, um während der folgenden 38 Stunden bei minimalen sekundären Schwankungen äußerst langsam bis auf 1,8 Skt abzufallen. Nach 50 Stunden wurde der Versuch abgebrochen, da sich eine zweite maximale Erhebung weder am Ende des ersten noch am Beginn oder im Verlaufe des zweiten Tages einstellte. Die mikroskopische Untersuchung mit Sudanglyzerin ergab eine beginnende Verkorkung am oberen Drittel des Einstichrandes. Während der 50 Stunden der Versuchsdauer geht die Temperatur in der Glocke um 0,8° herunter. Das verursacht, da es sich um fallende Temperatur handelt, keine Schwankung im Sättigungsgrad der Luft mit Wasserdampf.

Res. Entf.: 5 mm, Tf.: 10 mm, Max.: 4,6[2]).

Versuch VII und VIII waren Nullpunktsuntersuchungen.

Versuch IX. Zwei Hälften einer diesjährigen Maltakartoffel.

Nachdem die Nullage eingetreten und deren Konstanz durch acht Stunden beobachtet war, wurde auf beiden Seiten der Nadel in einer Entfernung von je 5,5 mm geschnitten. Nach 30 Minuten ist eine Höhe der Kurve bei 6,2 erreicht, die sich nach einem kurzen Niedergang auf 6,0 zum Maximum von 7,9 erhebt, das nach 75 Minuten eintritt. Darauf erfolgt ein mit der Zeit nahezu proportionaler Abfall in 11¾ Stunden bis zur Nullage. Keine Korkbildung. Die Temperatur in der Glocke unterlag während des Versuchs einer belanglosen Schwankung von 0,06°.

Res. Entf.: je 5,5 mm, Tf.: 9 mm, Max.: 7,9.

Versuch X, XI. XII sind Kontrollversuche, die ausgeführt wurden, ohne daß der Sättigungsgrad der Luft mit Wasserdampf erreicht war. Die Kurven gehen nach einer kurzen Erhebung, die wohl auf

---

[1]) Die Kurven siehe im Anhang.

[2]) Entf. = Entfernung der Nadel von der Schnittfläche, Tf. = Tiefe des Einstichs, Max. = Maximum.

mechanische Reibungswärme beim Schneiden zurückzuführen ist, alle infolge der auftretenden Verdunstungskälte unter den Nullpunkt herunter.

Versuch XIII. Zwei diesjährige Maltakartoffeln.

Die konstante Ruhelage tritt bei — 0,3 ein. Zwanzig Stunden nach Ansetzung des Versuchs wurde in einer Entfernung von 5 mm nur auf der einen Seite der Nadel ein Schnitt ausgeführt. Nach einer sofortigen Erhebung auf zwei Skt tritt nach 45 Minuten das — nicht hohe — Maximum bei 3,5 ein, auf das ein langsamer Abfall folgt. Der Versuch wird nach 3¾ Stunden abgebrochen, da eine Dauerbeobachtung nicht beabsichtigt war. Keine Temperaturschwankung.

Res. Entf.: 5 mm, Tf.: 7 mm, Max.: 3,5.

Versuch XIV. Zwei Hälften eines diesjährigen australischen Apfels.

Da es sich um Hälften eines Objektes handelt, trat die erwartete Nullage ein. Vierzehn Stunden nach Ansetzung wurde auf beiden Seiten der Nadel in einer Entfernung von 3 und 4 mm geschnitten. Die Kurve steigt wieder sofort an und erreicht nach 20 Minuten ihr Maximum bei 10,0. Sodann folgt ein Abfall in drei Stunden bis zu 4 Skt. Diese Lage bleibt acht Stunden lang annähernd konstant. In weiteren 36 Stunden erfolgt ein allmähliger, der Zeit ziemlich proportionaler, am Schlusse etwas schnellerer Abfall zur Nullage. Während der 47stündigen Dauer des Versuchs tritt eine Gesamttemperaturschwankung im Innern der Glocke von 0,2° ein, die belanglos ist. Eine zweite maximale Erhebung hat also nicht stattgefunden. Die Kurve zeichnet sich durch einen sehr gleichmäßigen Gang aus.

Res. Entf.: 3 und 4 mm, Tf.: 9 mm, Max.: 10,0.

Versuch XV. Zwei vorjährige Kartoffeln.

Die Ruhelage tritt bei 1,3 ein. Achtzehn Stunden nach Ansetzung des Versuchs wurde in einer Entfernung von 6 mm ein Schnitt geführt. Der augenblickliche Anstieg bis zu zwei Skt ist ebenso wie das nach 30 Minuten eintretende Maximum (2,3) gering, was wohl auf die Entfernung des Schnittes von der Nadel zurückzuführen sein dürfte. Um an einer Kurve die Höhendifferenz bei verschieden entfernten Schnitten demonstrieren zu können, wurde, sobald nach dem ersten Schnitt eine annähernd konstante Lage eingetreten war, auf der anderen Seite der Nadel in nur 2 mm Entfernung ein zweiter Schnitt geführt, der ein sofortiges hohes Aufsteigen zur Folge hatte. Genau

30 Minuten nach dem zweiten Schnitte tritt das Maximum der Kurve bei 7,7 ein. Die Kurve nimmt dann den typisch abfallenden Verlauf an, und der Versuch wurde, da keine Dauerbeobachtung beabsichtigt war, nach 4½ Stunden abgebrochen.

Res. Entf.: 6 u. 2 mm, Tf.: 1 cm, Max. 2,3 u. 7,7 mm.

Versuch XVI—XIX. Diese Versuche entsprechen im allgemeinen der Theorie aller vorhergehenden, zeigen jedoch in Einzelheiten einige Abweichungen, die auf ein technisches Mißlingen in der Ausführung des Schnittes zurückzuführen sind.

Versuch XVI mit einer Karotte zeigt, da das große Objekt durch den Tubus schwer zu schneiden war und ein sehr starker Druck ausgeübt wurde, eine Überhöhung des Aufstiegs, die auf Druckwärme zurückzuführen ist.

Bei Versuch XVII fiel die Nadel aus dem Objekt heraus, da zu nahe an der Nadel geschnitten war. Die Kurve zeigte bis dahin aber einen normalen Verlauf.

In Versuch XVIII zerbrach eine Thermonadel und bei Versuch XIX war nicht genügende Feuchtigkeit vorhanden.

Versuch XX. Zwei junge diesjährige Rettige.

Die Ruhelage trat bei — 6,6 ein. Nach 18 Stunden werden wie bei Versuch XV zwei Schnitte in verschiedener Entfernung ausgeführt. Der erste Schnitt in 3 mm Abstand bewirkt einen schnellen, die mechanische Reibungswärme darstellenden Anstieg bis zu sechs Skt und einen ebenso schleunigen Abfall bis zu einem Betrage, von welchem an sich die langsam aufsteigende Wundwärme bemerkbar macht. Nachdem das Maximum bei 3,8 erreicht ist, erfolgt ein neuer Schnitt auf der anderen Seite, aber in 6 mm Entfernung. Bei dem größeren Abstand dieser Verletzung fehlt der schnelle augenblickliche Anstieg. Nach 5½ Stunden wird der Versuch abgebrochen, da die Kurve den typischen Verlauf zeigt und eine Dauerbeobachtung erst später beabsichtigt war.

Res. Entf.: 3 u. 6 mm, Tf.: 8 mm, Max. 3,8 u. 5,5.

Versuch XXI. Zwei junge diesjährige Rettige.

Mit demselben Material, wie im vorhergehenden Experiment war ein Dauerversuch beabsichtigt. Ruhelage bei — 3,6. Nach 42 Stunden werden auf beiden Seiten der Nadel in einer Entfernung von je 7 mm Schnitte geführt. In 15 Minuten erfolgt der Anstieg bis zum Maximum von 6,7, in den beiden nächsten Stunden ein schnellerer, in weiteren 10 Stunden ein langsamer Abfall bis zur Nulllage. Korkbildung war

nicht eingetreten. Die Temperaturschwankung unter der Glocke betrug 0,3°.

Res. Entf.: je 7 mm, Tf.: 10 mm, Max.: 6,7.

Versuch XXII mit Kartoffeln zeigt trotz zweiseitigen Schnittes nur einen langsamen und wenig hohen Anstieg. Da irgend etwas in Unordnung zu sein schien, wurde der Versuch nach 3½ Stunden auseinandergenommen, und es stellte sich in der Tat heraus, daß in die Einschnittstellen der Thermonadeln Exsiccatorfett gekommen war. Das Gewebe war gänzlich geschwärzt und die Empfindlichkeit der Nadeln durch das sie umgebende Fett stark herabgesetzt.

Versuch XXIII. Zwei australische Äpfel.

Die Ruhelage trat bei — 3,8 ein. 42 Stunden nach Ansetzen des Versuchs wurde auf beiden Seiten geschnitten. Bei diesem Versuche wurden zum erstenmal sofort nach dem Schneiden die Schnittflächen mit einem Wattebausch, der an einem Holzstäbchen befestigt war, abgewischt, um die erste nach dem Schnit aus den Zellen austretende Flüssigkeit hinwegzunehmen. Der schnelle Kurvenanstieg erfolgt in derselben charakteristischen Weise wie bei dem ersten Apfelversuch (XIV). Die Größe der Schnittflächen, die Nähe derselben an der Nadel — vielleicht auch das erste Abtrocknen, was aber zu bezweifeln ist — bedingen das hohe Maximum, das bei 16,0 in 25 Minuten erreicht wird. Von dort ab fällt die Kurve in 2½ Stunden bis auf 7,4 zurück, um allmählich in den konstanten Teil überzugehen.

Res. Entf.: 3 u. 4,5 mm, Tf.: 10 mm, Max.: 16,0.

Versuch XXIV. Zwei Mairüben (Brassica rapa).

Die Ruhelage trat bei — 2,0 ein. Nach 28 Stunden wurde auf beiden Seiten geschnitten. In 20 Minuten erfolgt dann der Anstieg bis zum Maximum von 6,3; in den nächsten 1½ Stunden ein schneller Abfall bis auf 2,2. In den folgenden 24 Stunden geht die Kurve nach einer minimalen sekundären Erhebung, die keinesfalls als zweites Maximum gedeutet werden kann, in die Nullage über. Korkbildung war nicht eingetreten. Die Temperaturschwankung während des ganzen Versuchs betrug nur 0,15°.

Res. Entf.: 4 u. 6 mm, Tf.: 12 mm, Max.: 6,3.

Bemerkung zu Versuch XXIV: Das Objekt dieses Versuches steht verwandtschaftlich den Objekten der Versuche XX und XXI sehr nahe. In der Tat zeigen diese drei Kurven eine große Ähnlichkeit untereinander, indem besonders der rasche Abfall vom Maximum bis zu einer bestimmten Höhe charakteristisch ist.

Versuch XXV. Zwei vorjährige Kartoffeln.

Die konstante Ruhelage trat bei + 1,8 ein. Zwanzig Stunden nach Ansetzung des Versuches wird ein Schnitt in zirka 1 mm Entfernung geführt. Die Kurve erhebt sich sofort und erreicht nach einer Stunde das Maximum von 12,5 SKT. (Bei der Nähe des Schnittes an der Nadel nicht weiter auffällig.) Danach fällt die Kurve vier Stunden lang zuerst rascher bis auf sechs Skt ab, um in weiteren 42 Stunden nach einem sehr langsamen, der Zeit annähernd proportionalen Rückgang die Nullage zu erreichen. Während der zweitägigen Dauer des Experimentes beträgt die Temperaturschwankung im Glockeninnern nur 0,1°. Die Untersuchung mit Sudanglyzerin ergab eine Verkorkung in der oberen Hälfte des Einstichs.

Res. Entf.: zirka 1 mm, Tf.: 10 mm, Max.: 12,5.

Versuch XXVI. Zwei junge diesjährige Karotten.

Ruhelage bei + 2,7. 36 Stunden nach Ansetzen des Versuches wird auf beiden Seiten geschnitten, und zwar ziemlich nahe in 2,5 und 3,5 mm Entfernung. Die Kurve steigt sogleich an und erreicht mit 15 Minuten ihr Maximum bei 6,1. Sie geht dann in 15 Minuten auf 3,9 zurück, um von hier an 36 Stunden hindurch ganz allmählich abzufallen. Da sich weder am Ende des ersten, noch im Verlauf des zweiten Tages eine zweite Erhebung bemerkbar macht, wird der Versuch nach 37 Stunden abgebrochen. Die Kurve zeigt einen übereinstimmenden Gang mit derjenigen des ersten Karottenversuches (VI). Daß in dieser Kurve nach erreichtem Maximum ein Rückgang eintritt, erklärt sich ohne weiteres aus der Nähe der Verwundungen an der Nadel. In Versuch VI war nur ein Schnitt in 5 mm Entfernung geführt. Die Temperaturschwankung betrug während des ganzen Versuches 0,7°.

Res. Entf.: 2,5 u. 3,5 mm, Tf.: 10 mm, Max.: 6,1.

Versuch XXVII. Kontrollversuch an zwei Kartoffeln.

Um an ein und demselben Versuche gleichzeitig die Fehlerquellen durch zu geringen Feuchtigkeitsgehalt der Luft nachzuweisen und die auftretende Verdunstungskälte zu demonstrieren, wurde folgendes Experiment angestellt: Auf der Glasplatte P wurden an freier Luft, also ohne Glocke, zwei Kartoffeln befestigt, die Nadeln hereingesteckt und die Leitung geschlossen. (Schaltskizze I S. 64.)

Nach einiger Zeit war eine Ruhelage eingetreten, aber es war keine konstante Ruhelage wie bei den vorhergehenden Versuchen; denn da die schützende Glocke die Anordnung nicht bedeckte, waren die Schwankungen größere und von kürzerer Periode; es ist dies eine Kontrollwirkung, die auf den ungehindert an die Thermoleitung her-

antretenden äußeren Einflüssen (Luftströmung, Temperaturänderung) basiert. Es wurde nun die zwischen + 3 und — 2 langsam schwankende Ruhelage beobachtet und beim Durchgang durch die Nullage (± 0) Schnitt I ausgeführt. Infolge der mechanischen Reibungswärme tritt eine sofortige Erhebung auf — 6 ein. Der Zellsaft beginnt aus der Wunde auszutreten und infolgedessen macht sich Verdunstungskälte bemerkbar. Daher der rasche Niedergang des Galvanometers auf die „kalte Seite" bis + 14. Hierauf wird die Schnittfläche mit Watte abgetrocknet. Die Wundwärme breitet sich infolgedessen wieder aus, und das Galvanometer geht auf — 2. Allmählich tritt neuer Zellsaft aus der Wunde aus. Die Verdunstungskälte zeigt sich beim Niedergang des Galvanometers auf + 14. Nach abermaligem Abwischen erscheint die Wundwärme wieder bei — 1,4. Darauf wird beim Passieren der Nullage Schnitt II ausgeführt. Der sofortige Anstieg auf — 4,5 ist reine Reibungswärme. Daß nun aber auf beiden Seiten Zellsaft aus den Wunden austritt, erkennt man an dem tiefen, Verdunstungskälte andeutenden Stande des Galvanometers bei + 30. Nach Abwischen beider Schnittflächen breitet sich die Wundwärme wieder aus, da das Galvanometer auf — 7 geht. Es wiederholt sich dasselbe Spiel wie nach Schnitt I, nur — bei zwei Wunden — in vergrößertem Maßstabe. Schließlich wird die Watte nicht mehr zur Aufnahme des Zellsaftes benutzt. Daher zeigt das Galvanometer nach 7 Minuten bei + 95 Skt eine Verdunstungskälte von über ½° C. an.

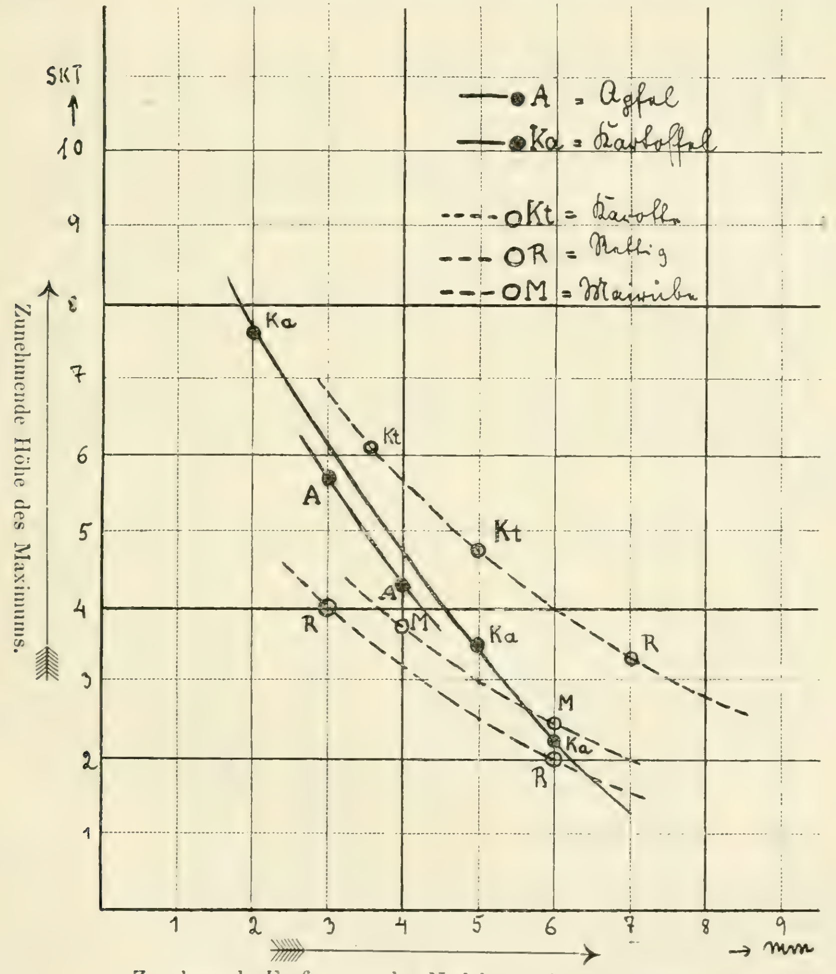
ι) Theorie der Versuche über Höhe und Dauer der Wundwärme.

Ohne zunächst auf die Natur der Wundwärme einzugehen — das bildet ein später gesondert zu behandelndes Kapitel — ergeben die Versuche klare Beziehungen zwischen Verwundung und Kurvengang.

Es liegt in der Natur pathologischer Erscheinungen, daß mit der zunehmenden Größe verletzender Einwirkungen auf einen Organismus die Reaktion desselben wächst. Daß diese Erscheinung annähernd proportional mit der Verwundung zunimmt, wäre anzunehmen, und die Versuche beweisen in der Tat einen gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Verletzung und Reaktion. Die durch eine Verwundung hervorgerufene erhöhte Lebenstätigkeit wird selbstverständlich am größten in dem verletzten Zellenkomplex sein und von dort aus allmählich abnehmen. Darauf hat auch Richards in seiner Abhandlung hingewiesen, und da er bei der Kartoffel eine begrenzte Region für die Wundreizempfänglichkeit konstatierte, während er sie bei der Zwiebel über das ganze Objekt ausgebreitet fand, sind hier nähere Untersuchungen über die Grenze der Wundreizempfänglichkeit nicht ausgeführt. Auch ohne nähere Prüfung dieses Gegenstandes ist es

klar, daß verschiedenartige Objekte aus Gründen differenter histologischer Zusammensetzung verschieden auf Verletzungen reagieren. Diese Annahme wird durch die Versuche bewiesen.

Trägt man nämlich — wie in der folgenden graphischen Darstellung — als Abszissen die Entfernungen der Thermonadel von der



Zunehmende Entfernung der Nadel von der Schnittfläche.

verletzten Fläche, als Ordinaten die zugehörigen Maxima auf, so ergeben sich für die verschiedenen Objekte schwach gekrümmte Kurven, die sämtlich eine mit der Entfernung von der Wunde gesetzmäßig abnehmende Empfindlichkeit für den Wundreiz darstellen. Die Grenze derselben ist für die verschiedenen Objekte verschieden. Sie wird bei Kartoffeln und Äpfeln eher erreicht als bei Karotten, Rettigen und Mairüben.

Die Erklärung dieser Erscheinung ist relativ einfach. Bei Kartoffeln und Äpfeln handelt es sich um ein parenchymatisches, mit wenig Interzellularräumen versehenes Gewebe, dessen Zellen mit Nähr- und Reservestoffen vollgepfropft sind. Diese bedingen, da es sich um schlechte Wärmeleiter handelt, eine lokale Anhäufung der Wundwärme, die sich in einem höheren Maximum und einer längeren Dauer zu erkennen gibt.

Bei Karotten, Mairüben und Rettigen dagegen, welche die Funktion einer Wurzel verrichten, sind die Zellen vorwiegend mit Zellsaft erfüllt. Es findet daher eine schnellere und weitere Ableitung der durch die Verletzung hervorgerufenen Wärme statt, da dieselbe durch Strömung der Flüssigkeit und durch Leitung (innere Strahlung) verbreitet wird. Das Maximum ist daher niedriger, die Empfindlichkeitsregion größer. Daß ferner die Reaktion auf Wunden mit der Größe derselben zunimmt, ist ohne weiteres klar und läßt sich ebenfalls graphisch durch gerade Linien darstellen, die vom Nullpunkt der Verletzung proportional mit dem Grade derselben ansteigen.

Die absolute Größe der Wundwärme ist sehr gering, aber sie erscheint nicht unnatürlich, wenn man bedenkt, daß alle nur möglichen Vorsichtsmaßregeln getroffen wurden, um störende Einflüsse zu vermeiden.

Aus der folgenden Tabelle sind die Werte am bequemsten ersichtlich:

Objekt	Maxim. in Skt	0° C.
Kartoffeln (vorjähr.) . .	12,5	0,07°
„ (vorjähr.) . .	7,7	0,04°
„ (diesjähr.) . .	7,9	0,04°
„ „ . .	3,5	0,02°
„ „ . .	5,4	0,03°
Äpfel	10,0	0,06°
Äpfel	16,0	0,08°
Karotten	4,7	0,03°
Karotten	6,1	0,03°
Objekt	**Maxim. in Skt**	**0° C.**
Rettig	6,0	0,03°
Rettig	6,7	0,04°
Rettig	5,5	0,03°
Mairübe	6,3	0,03°

Mittlere Höhe der Wundwärme 0.041° C.

Der absolute Betrag der Wundwärme schwankt zwischen $^1/_{12}$ und $^1/_{50}$° C. Er ist größer bei Apfel und Kartoffel als bei Rettigen, Karotten usw. Die Gründe für diese Erscheinung sind kurz vorher auseinandergesetzt worden.

Diesjährige Kartoffeln zeigen einen geringeren Temperaturanstieg als vorjährige, was wohl mit dem verschiedenen Ruhezustand beider zusammenhängen mag.

c) Vergleich beider Methoden.

Die so erlangten Resultate erfordern einen Vergleich mit denen, die Richards auf thermo-elektrischem Wege erhielt.

Übereinstimmend mit Richards fand Verfasser

1. die Tatsache, daß nach Verletzungen eine Temperaturerhöhung im verwundeten Objekt eintritt;

2. daß die Dauer derselben, welche bei verschiedenen Objekten variiert, sich auf mehrere Tage erstrecken kann.

Demgegenüber stehen aber verschiedene Differenzen, deren größte sich auf die maximale Erhebung der Kurve bezieht.

1. Richards findet den Eintritt des Maximums durchschnittlich 24 Stunden nach der Verletzung. Eine Ausnahme davon machen Zwiebeln und Gurken, deren Maxima schon nach 8 resp. 6 Stunden eintreten. In der vorliegenden Arbeit dagegen ist in sämtlichen Experimenten das Maximum stets $^1/_4$ bis $2^1/_2$ Stunden nach der Verwundung eingetreten, und es konnte in keinem Versuch um die Zeit des von Richards konstatierten Maximums auch nur die leiseste Tendenz zu einem erneuten Anstieg nachgewiesen werden.

Wie gegensätzlich die Beobachtungen in beiden Arbeiten hinsichtlich des Anfangs der Kurven sind, geht am besten daraus hervor, daß Richards unmittelbar nach dem Einstich der Nadel niemals eine Temperaturdifferenz zwischen dem verletzten und dem unverletzten Objekt feststellt, sondern erst nach zwei Stunden ein geringes Ansteigen bemerkt, zu einer Zeit, in welcher die Maxima der vorliegenden Arbeit bereits überschritten sind. Darauf wird später zurückzukommen sein.

2. Eine weitere Differenz beider Arbeiten bezieht sich auf die absolute Größe der Wundwärme.

Die maximalen Erhebungen bei Richards schwanken zwischen 0,14° und 0,38° bei einem Durchschnittswert von 0,26° C. ($^1/_4$° C.), diejenigen der vorliegenden Versuche bewegen sich zwischen 0,02° und 0,08° bei einem Mittelwert von 0,04 ($^1/_{25}$° C.).

Diese Abweichung von den Richardsschen Versuchen finden ihre Erklärung, wenn man die Methoden beider Arbeiten vergleicht. Richards gebraucht als Strommeßinstrument ein Nadelgalvanometer. Die Empfindlichkeit dieser Galvanometer gegen äußere magnetische und elektrische Felder (bewegte Eisenmassen, störende elektrische Ströme) ist speziell bei subtilen Messungen unliebsam bekannt. Die Einwirkung des erdmagnetischen Feldes in Form periodischer Ab-

lenkungen der Nadel nach Osten und Westen kann durch Beobachtung dieser Veränderungen aus den Ausschlägen eliminiert werden. Rodewald[1]), welcher mit einem derartigen Galvanometer äußerst präzise Messungen vornahm, gibt die große Reihe der zu beobachtenden Vorsichtsmaßregeln an. Richards, der diese Abhandlungen kannte, findet, daß bei seiner eigenen Arbeit „die äußerste Akkuratesse von Rodewalds quantitativen Untersuchungen nicht so notwendig ist" („the extreme accuracy of Rodewalds quantitative research was not so necessary"). Wenn man bedenkt, daß die Ausschläge bei Richards gegenüber denen von Rodewald nur klein sind, die Fehler bei kleinen Ausschlägen das wahre Resultat also bedeutend mehr verschleiern werden als bei großen, so wird man bezweifeln müssen, daß die Ausschläge fehlerfrei sind und in ihnen vielmehr nur eine Proportionalität mit der Wundwärme zu suchen haben.

Bei einem Drehspulgalvanometer dagegen, wie es in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, fallen sämtliche außerhalb der Versuchsanordnung liegende Fehlerquellen bei genügender Isolation gegen Temperaturveränderungen weg. Es erübrigt nunmehr, auf die möglichen Fehler innerhalb der Anordnung von Richards zurückzukommen. Die Verbindung der Drähte vom Galvanometer mit denen vom Thermoelement ist bei Richards durch Klemmschrauben (!) (bindings-screws) hergestellt. Einmal können durch den Druck der Schrauben auf die Drähte Störungen hervorgerufen werden; ob zweitens die Isolation mit Kork allein gegen Temperaturveränderungen schützt, muß nach den Beobachtungen in dieser Arbeit in Zweifel gezogen werden.

Was die Bedingungen anbelangt, unter denen die Versuche ausgeführt werden, so hält Richards konstante Temperatur und Sättigung der Luft mit Feuchtigkeit für notwendig und hinreichend. Erstere ist vollkommen erfüllt, über letztere aber nichts Näheres gesagt. Man muß annehmen, obwohl in der Arbeit selbst nichts darüber mitgeteilt ist, daß Richards die Versuchsobjekte unter einer Glasglocke oder ähnlichen Einrichtungen gehalten hat, um überhaupt in einem Raum mit dampfgesättigter Atmosphäre operieren zu können. Es ist bei der großen Schwierigkeit, einen abgeschlossenen Raum (z. B. die Glasglocke in vorliegender Arbeit) einwandfrei mit Wasserdampf zu sättigen, verwunderlich, daß Richards nirgends die Konstanz des Sättigungsgrades betont. Wenn er nämlich nach Schnittführung und Einstecken der Nadel die Glocke über die Anordnung deckt, so ist die Luft in derselben keinesfalls mit Wasserdampf gesättigt, da sie ja unmittelbar vorher mit der Luft des ganzen Raumes in Verbindung

[1]) Rodewald, Pringsh. Jahrbücher 87, 88, 89.

stand, vielmehr wird die Sättigung erst allmählich erfolgen. Mit dem genannten Momente beginnt Richards aber die für die Kurve geltende erste Beobachtung und behauptet dabei, daß unmittelbar nach Verletzung und Einführung der Nadel kein Ausschlag des Galvanometers erfolgt. (It was never found that there was any difference between the cut surfaces and the uninjured potatoe immediately after injury; it was not until the second observation was made usually some two hours after wounding! . . .) Dies ist bei der Empfindlichkeit der thermoelektrischen Methode absolut unverständlich, wenn man bedenkt, daß beim Schneiden und Einführen der Nadel die warmen Hände mit der ganzen Apparatur in Berührung kommen, daß der warme ausgeatmete Luftstrom des Experimentators die Anordnung notwendigerweise treffen muß, daß beim Schneiden mechanische Reibungswärme entsteht und daß vor allen Dingen das eingeführte Thermoelement sich bei der Durchdringung des Gewebes durch Reibung erwärmt. Den Beginn der Beobachtungen in eine Zeit zu verlegen, wo so viel irritierende Nebenwirkungen auftreten, kann der Darstellung reiner Wundwärmewirkung nur hinderlich sein. Das ist in vorliegender Arbeit dadurch gänzlich vermieden, daß zwischen Einführung der Nadel und Schnitt stets 15 bis 44 Stunden vergingen, um einen vollständigen Temperaturausgleich herbeizuführen, und daß es möglich war, ohne im geringsten an der fix und fertig geschlossenen Anordnung etwas zu rühren, die Objekte unter der Glasglocke in bereits dampfgesättigter Atmosphäre zu schneiden. Nur auf diesem Wege kann man die Wirkung der Wundwärme isolieren.

Über den Einfluß des Lichtes auf die Experimente äußert sich Richards gar nicht. Wenn man auch annehmen kann, daß Insolation nicht stattgefunden hat, können doch nach den Erfahrungen über Wirkung künstlicher Belichtung in dieser Arbeit störende Einflüsse derselben in den Richardsschen Resultaten nicht von der Hand gewiesen werden.

Daß die Höhe der Richardsschen Werte für die Wundwärme das normale Maß bei weitem überschreitet, scheint aus folgendem Experiment (12a) hervorzugehen. Richards schneidet, preßt die Schnittflächen zusammen und bedeckt sie mit Ton (clay). Wie gewöhnlich stellt er unmittelbar nach der Verletzung keine Ablenkung der Galvanometernadel fest. Nach 24 Stunden entfernt er den Ton und macht dann Bestimmungen der vorhandenen Wundwärme. Diese fallen niedrig aus (0,07 bis 0,12), worin Richards die Folge einer zeitweise fehlenden Sauerstoffzufuhr sieht. Betrachtet man dagegen die Wundwärme als eine Reizerscheinung, die — wie später zu beweisen ist — bis zu einem gewissen Grade unabhängig von Sauerstoff ist, so kann man aus dem Versuch etwas anderes herauslesen.

Die in diesem Versuch bedeckten Schnittflächen sind nicht in dem Maße äußeren, den Gesamteffekt steigernden Einflüssen ausgesetzt, wie die „offen klaffenden“ (open gapes) Schnittflächen in allen anderen Experimenten. Daher ist die Temperatur niedriger, der reinen Wundwärme näher kommend, und der Schluß, daß die gemessene Temperatur in den anderen Experimenten zu hoch ist, erscheint gerechtfertigt.

Schließlich sei noch bemerkt, daß die Beobachtungen bei Richards (alle 3 bis 4 Stunden, nachts überhaupt nicht) in viel zu großen Pausen erfolgt sind, so daß ihm Einzelheiten der Erscheinung gänzlich verloren gehen mußten.

Aus alledem ist ersichtlich, daß man die unterscheidenden Momente beider Arbeiten auf die verschiedenen Arbeitsmethoden zurückzuführen hat. Beim Fortschritt der Hilfsmittel und von veränderten Gesichtspunkten aus dürfte in der vorliegenden Arbeit die präzisere Methode die korrektionsfähigen Fehler auf ein zurzeit nicht erkennbares Minimum herabgedrückt haben. Die Reduktion der absoluten Größe der Wundwärme erklärt sich leicht daraus.

Während es in den bis hier vorliegenden Untersuchungen darauf ankam, die Erscheinung der Wundwärme in ihren einzelnen Phasen zu beobachten, muß sich der nächste Abschnitt mit der Frage beschäftigen: Welcher Art sind die Vorgänge im pflanzlichen Organismus, die nach traumatischen Eingriffen ein Ansteigen der Temperatur im Zellverband hervorrufen?

B. II. Die Natur der Wundwärme.

a) Richards Erklärung als reine Atmungswärme anfechtbar, da auch seine Atmungsversuche nicht einwandsfrei sind.

Richards hat zur Beantwortung dieser Frage so gut wie garnichts getan. Am Schluß seiner Arbeit führt er in allgemein gehaltenen Sätzen aus, daß die beobachtete Erscheinung ein Wundfieber sei, das man auf erhöhte Lebenstätigkeit des geschädigten Organismus zurückführen müsse, ähnlich wie höhere Tiere auf Verwundungen reagieren. Wenn ein spezieller Grund für die Temperaturerhöhung gesucht werden solle, so ließe sich dieselbe lediglich als eine Folge erhöhter Atmung darstellen, da der Kurvenverlauf beider Erscheinungen (erhöhte Atmung und Temperaturerhöhung nach Verletzungen) große Ähnlichkeiten aufweise.

Dem muß gegenübergestellt werden, daß der Eintritt der Maxima in beiden Kurven nur für die Kartoffel annähernd koinzidiert; in allen anderen Fällen tritt das Atmungsmaximum erst bedeutend später ein (bei Zwiebeln z. B. Atmungsmaximum nach 72 Stunden, Wärmemaximum nach 24 Stunden). Auch in der Dauer unterscheiden sich beide Kurven, indem die Temperaturkurven kürzer als die Atmungskurven sind. Aus naheliegenden Gründen hat Verfasser die Arbeit von Richards aus dem Jahre 1896 (The respiration of Wounded Plants) genauer studiert und gefunden, daß sich in einzelnen Punkten gegen die experimentelle Anordnung Einwände erheben lassen. Es würde hier nicht näher auf eine kritische Betrachtung der Untersuchung eingegangen werden, wenn nicht die Verbindung derselben mit Fragen vorliegender Arbeit so innig wäre, und wenn nicht gerade aus neuerer Zeit eine Abhandlung über dasselbe Thema vorläge, welche die Frage der Atmungssteigerung nach Verletzungen durch Richards als nicht völlig gelöst ansieht.

N. A. Maximow[1]) betont in seinem Aufsatz: „Über den Einfluß der Verletzungen auf die Respirationsquotienten", daß schon die Respirationsquotienten der unverletzten Organe bei Richards zu niedrig seien, und fährt an anderer Stelle fort: „Noch größere Zweifel werden aber in uns wach, wenn wir unsere Aufmerksamkeit auf die geringen Mengen von CO_2 richten, mit denen Richards manipuliert hat." Maximow will die niedrigen Quotienten bei Richards darauf zurückführen, daß die Kartoffel wie alle fleischigen Organe befähigt ist, große Mengen von CO_2 anzusammeln und diese in einem abgeschlossenen Raum in der ersten Zeit zurückzuhalten. Verfolgt man aber aufmerksam die Versuchsmethode Richards, so kann man die niedrigen Werte leichter auf Fehlerquellen der Anordnung zurückführen.

Bekanntlich ist Wasser befähigt, bei ca. 20° C. (der von Richards benutzten Temperatur) 90% seines Eigengewichtes an CO_2 zu absorbieren. Ferner absorbiert Kautschuk nach den Arbeiten von E. Pflüger[2]) außer anderen Gasen auch CO_2. Auf der anderen Seite kann Kautschuck aber auch durch Oxydationsvorgänge zur Bildung von CO_2 Veranlassung geben, besonders bei Berührung mit alkalischen Flüssigkeiten[3]).

Bedenkt man nun, daß Richards bei seinen Untersuchungen die Objekte, sowohl geschnittene wie ungeschnittene, stets vor dem

---

[1]) Maximow, Ber. d. Deutschen Bot. Ges. 1903, S. 252—59.

[2]) E. Pflüger, Zeitschr. f. analyt. Chemie, S. 18, 302.

[3]) Literatur über diese Vorgänge bei Blochmann, Über den CO_2gehalt der atmosphärischen Luft. Ann. d. Chemie 237. Bd.

einzelnen Experiment gewaschen und „nur oberflächlich“ (only somewhat) getrocknet hat, und daß „die Versuchspflanzen während des Experimentes reichlich mit Feuchtigkeit versorgt wurden, ohne daß eine „beträchtliche Menge“ von Wasser in dem Behälter zurückblieb, so ist es nicht zu bezweifeln, daß ein Teil der geringen Menge von CO_2, um die es sich ja handelt (mg!), von dem vorhandenen Wasser absorbiert und für die Analyse verloren gegangen ist. Ferner ist der Behälter (receiver of plants) bei Richards mit einem Kautschukstopfen verschlossen und besitzt im Innern zwecks Mischung der Luft einen ausdehnbaren Kautschukballon. Nach den obigen Ausführungen kann diese Verschlußart nicht dazu dienen, fehlerfreie Resultate zu erzielen.

Es kam im Vorstehenden wesentlich darauf an, zu zeigen, daß die Resultate über Atmungssteigerung nach Verletzungen bei den verschiedenen Autoren (Boehm 1887, Stich 1891, Richards 1896, Smirnoff 1903, Maximow 1903) viel Divergierendes enthalten, und daß die Richardsschen Beobachtungen keineswegs einwandfrei sind. Daher hat auch sein Bestreben, die Temperaturerhöhung nach Verletzung nur auf erhöhte Atmung zurückzuführen, wenig für sich.

b) Versuche mit abgetöteten Objekten in dampfgesättigter Luft und Kohlensäure.

Nachdem in der vorliegenden Arbeit die Versuche mit lebenden Objekten untereinander übereinstimmende und befriedigende Resultate ergeben hatten, wurden in den nunmehr folgenden Experimenten zu Vergleichszwecken tote Organe benutzt.

Das Abtöten der verwendeten Objekte (Kartoffel, Apfel, Karotte, Rettig, Mairübe) geschah auf dreierlei Weise, durch Hitze, Kälte und Chloroform. Im ersten Fall wurden die Objekte entweder im Thermostaten bei $+120^0$ oder in Wasser von $+90^0$ ein bis anderthalb Stunden gelassen, im zweiten Fall wurden sie 12 bis 18 Stunden einer durch Kältemischung erzeugten Temperatur von -15^0 bis -18^0 ausgesetzt und im dritten Fall 36 bis 54 Stunden durch ca. 50 cm^3 Chloroform getötet, wobei zum erleichterten Eindringen der Chloroformdämpfe in das Gewebe ein Stück der Epidermis weggenommen war. Im übrigen wurden die Objekte in gleicher Weise wie die lebenden behandelt, und es mag hervorgehoben werden, daß die Anordnung mit toten Organen ebenfalls 14 bis 20 Stunden vor der Verletzung zum völligen Temperaturausgleich fertig geschlossen stand.

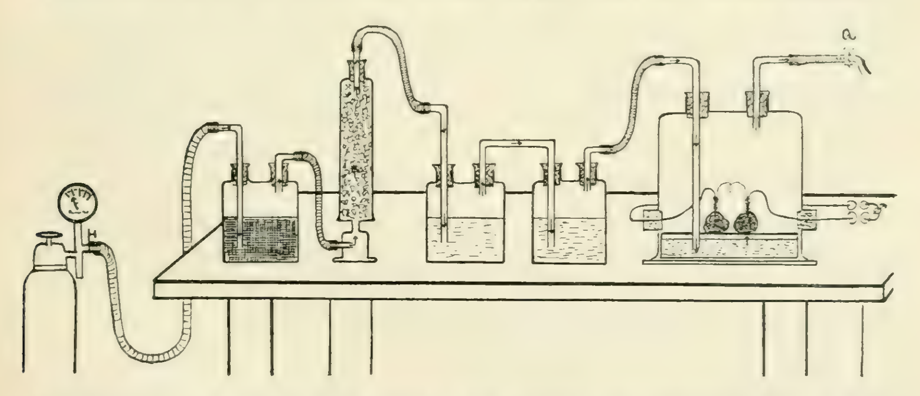
Man erwartete von diesen Experimenten gar keine oder nur im Anfang eine sehr kurze Reaktion auf die Verletzung, und es war daher umso überraschender, daß sich Kurven zwischen drei und achtstündiger Dauer ergaben. Da es einerseits feststand, daß diese Organe

getötet, d. h. sämtlicher Funktionen, die an lebendes Gewebe geknüpft sind, beraubt waren und es andererseits ausgeschlossen war, daß diese langen Kurven etwa aus rein mechanischer Reibungs- oder Druckwärme während des Schneidens herrühren konnten, wurden die Versuche mit abgetötetem Material weiter fortgesetzt. Um die Abhängigkeit dieser „toten Kurven“ (so mögen sie der Kürze halber gegenüber den Kurven der lebenden Objekte genannt werden) von vorhandenem Sauerstoff zu untersuchen, stellte man dieselben Versuche in sauerstofffreier Atmosphäre an und wählte zu diesem Zwecke reine Kohlensäure. Von einer Wasserstoffatmosphäre wurde wegen der hohen Wärmeleitfähigkeit dieses Gases Abstand genommen.

Die Versuchsanordnung für eine CO_2-Atmosphäre war folgende:

Die Kohlensäure aus der Bombe ging, um sie genügend mit Feuchtigkeit zu beladen, zuerst durch eine Wolffsche Flasche mit Kaliumpermanganat, darauf durch einen feuchten Bimssteinturm zu zwei weiteren Wolffschen Flaschen mit Wasser und aus diesem durch den Tubus I der Versuchsglasglocke hinunter in das Wasser der Schale S, von wo aus die CO_2 das Glockeninnere ausfüllte.

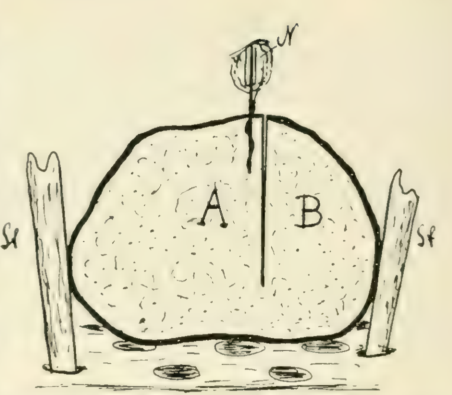
Bei den Experimenten selbst wurde zuerst die Glocke mit den Versuchsobjekten in derselben Weise hergerichtet wie in den lebenden



Versuchen. Darauf wurde durch den Tubus I ein langes Glasrohr eingeführt, das durch ein Loch in der Platte P ins Wasser der Schale S führte. Nachdem der Schlauch über das Rohr gezogen war, wurde 3—4 Stunden lang ein Kohlensäurestrom unter 1—2 Atmosphären Druck hindurchgetrieben. Durch Paraffinieren aller Stellen, an denen CO_2 hätte entweichen können, war für eine genügende Abdichtung gesorgt. Danach wurde der Quetschhahn Q geschlossen und die ganze Versuchsanordnung bis zum anderen Morgen stehen gelassen.

Aus den ersten Versuchen erwies sich durch Auftreten von Verdunstungskälte an der Schnittoberfläche, daß die Feuchtigkeit der Kohlensäure nicht den gewünschten Grad besaß (Versuch No. 37). Dem

konnte nur dadurch abgeholfen werden, daß man die durch Verletzung hervorgerufene Schnittoberfläche nicht mit der CO_2-Atmosphäre in direkte Berührung brachte. Das geschah dadurch (s. nebenstehende Figur), daß der verletzende Schnitt nur zu ³/₄ in das Objekt hineingeführt und das Messer dann herausgezogen wurde. So legten sich dann die Teile A und B des Objektes unter dem Druck der stützenden Stäbchen St zusammen, und die Schnittflächen waren vor Verdunstung geschützt. Der Effekt blieb derselbe. Das geht aus dem Vergleich mit den Kurven der toten Objekte in wasserdampfgesättigter Atmosphäre hervor, wo stets ein Stück des Objektes glatt abgeschnitten wurde (vgl. die Kurven im Anhang).



Es wurden mit toten Objekten im ganzen 14 Versuche ausgeführt, von denen jedoch vier nicht verwertet werden konnten. Bei zwei Versuchen in feuchter Luft waren Säuregärungen aufgetreten, was sich durch den hohen Stand des Galvanometers (36 Skt) und durch intensiv sauren Geruch bemerkbar machte; das lag daran, daß die betreffenden Organe nach der Abtötung 2—3 Tage gelegen hatten. Daher wurde bei den nächsten Versuchen darauf gesehen, daß die Objekte sofort benutzt wurden. Zwei weitere Versuche unter Kohlensäure mußten wegen der schon besprochenen Verdunstungskälte ausgeschlossen werden. Auf die Tatsache, daß auch in diesen Experimenten vor dem Schneiden keine Nullage, sondern eine von Fall zu Fall variierende konstante Ruhelage eintrat, wird bei der Theorie der Erscheinungen zurückgekommen werden.

Über die erhaltenen Resultate mit toten Objekten mag die folgende Tabelle eine Übersicht geben. (Alles Nähere siehe aus den Protokollen im Anhang.)

a) Versuche in wasserdampfgesättigter Atmosphäre.

Versuchs-No.	Tote Objekte	Art der Abtötung	Höhe d. Max.	Dauer der Kurve	Absolute Größe der Wärme
34.	Kartoffel	+ 90°	3,7	nach 5 Std. abgebr.	0,02
29.	Kartoffel	— 18°	2,4	3 Std.	0,01
28.	Mairübe	+ 120°	4,0	6 Std. 30 Min.	0,02
30.	Kartoffel	Chloroform	8,9	4½ Std.	0,05
32.	Kartoffel	Chloroform	4,0	7 Std.	0,02

b) Versuch in feuchter Kohlensäure.

Versuchs-No.	Tote Objekte	Art der Abtötung	Höhe d. Max.	Dauer der Kurve	Absolute Größe der Wärme
38.	Kartoffel	+ 90°	6,3	8 Std. 10 Min.	0,04
37.	Kartoffel	Chloroform	3,0	nicht beobachtet, da Demonstr. vers. f. Verdunstungskälte in CO_2	0,02
40.	Kartoffel	— 15°	3,7	7 Std.	0,02
41.	Apfel	Chloroform	4,0	nach 5½ Std. abgebr.	0,02
42.	Karotten	+ 90°	5,0	4 Std.	0,03

Vergleicht man die „toten“ Kurven mit den „lebenden“, so ergibt sich folgendes:

Im Prinzip unterscheiden sich beide Kurvengänge nicht; denn bald nach der Verletzung tritt in beiden Fällen das Maximum auf, von dem ein bald schnellerer, bald langsamerer Abfall bis zur Nulllage erfolgt. In den Einzelheiten treten Abweichungen auf. Die „lebenden“ Kurven haben ein durchschnittlich zweimal so hohes Maximum und eine sechs bis zehnmal so lange Dauer wie die „toten“ Kurven. Das deutet zunächst darauf hin, daß man in der Wundwärme (lebender Organe) nicht eine einzelne, gesteigerte, wärmeproduzierende Funktion zu sehen hat, sondern einen Erscheinungskomplex, dessen einzelne Glieder, jedes für sich, zum Zustandekommen des resultierenden Effektes beitragen.

c) Theorie dieser Versuche.

Um den vorhandenen Tatsachen eine genügende theoretische Erklärung geben zu können, ist es nötig, Arbeiten aus der neuesten Zeit zu berücksichtigen, welche sich mit posttraumatischen und postmortalen Vorgängen im Stoffwechselgebiete befassen.

Auf Grund der Pfefferschen[1]) Annahme, daß man normale und intramolekulare Atmung auf einheitliche primäre Ursachen zurückführen muß, liegt nach Jost[2]) die Möglichkeit vor, in der Atmung zwei Prozesse zu sehen, die nicht notwendig miteinander verknüpft zu sein brauchen: Spaltung und Oxydation. Danach müßte bei der Atmung zunächst unabhängig von Sauerstoff eine Zerspaltung organischer Substanz einsetzen, die Kohlensäure und einen weiteroxydablen Körper liefert. Dieser letztere würde dann bei Gegenwart von Sauerstoff oxydiert werden. Diese Auffassung wird durch zahlreiche neuere Arbeiten über das Auftreten von Enzymen bei der Atmung gestützt,

[1]) Pfeffer, Unters. Tübingen 1885. I, 636.
[2]) Jost, Pflanzenphysiologie. 1908. 236.

Arbeiten, welche nachweisen wollen, daß der in Rede stehende Lebensprozeß nicht an das Protoplasma unmittelbar, sondern an aus diesem gebildete Enzyme geknüpft ist.

Infolge von Verletzungen tritt nun nachgewiesenermaßen eine gesteigerte CO_2-Abgabe ein. Palladin[1]) unterscheidet in seiner Arbeit „Über den verschiedenen Ursprung der während der Atmung der Pflanzen ausgeschiedenen Kohlensäure", drei Arten produzierter CO_2:

1. Nucleokohlensäure, d. h. CO_2, welche zum Teil durch im Preßsaft unlösliche, mit dem Protoplasma verbundene Enzyme hervorgerufen wird;

2. Reizkohlensäure, d. h. CO_2, die scheinbar unmittelbar unter der Reizwirkung vom Plasma gebildet wird, und

3. Oxydasekohlensäure, durch Oxydase oder Katalase hervorgerufen.

Die Menge der erstgenannten Kohlensäure hängt von der Menge der Nucleoproteide ab. Diese letzteren nehmen aber nach Kovchoff[2]) infolge traumatischer Eingriffe stark zu auf Grund einer gesteigerten enzymatischen Tätigkeit.

Das liefert zunächst den Beweis, daß Verletzungen stimulierend auf die Tätigkeit der Enzyme einwirken. Es braucht nicht weiter hervorgehoben zu werden, daß Hand in Hand damit eine, wenn auch nur geringe, Steigerung der Temperatur einhergehen wird. Daß bei diesen Prozessen Enzyme eine Hauptrolle spielen, die unabhängig von lebendem Protoplasma auf Bildung von CO_2 aus organischer Substanz hinarbeiten, ist von T. Krasnosselsky[3]) nachgewiesen. Sie fand einmal, daß mit der Verletzung die Bildung von Atmungsenzymen wuchs, zweitens, daß erfrorene, also abgetötete Zwiebeln, auf Grund enzymatischer Wirkung mindestens ebensoviel CO_2 produzierten, wie lebende, und drittens, daß diese postmortale Tätigkeit in sauerstofffreier Atmosphäre, nämlich in Wasserstoff, unverringert fortdauerte.

Zu im Prinzip identischen Resultaten ist auch Grafe[4]) in seiner Abhandlung „Studien über Atmung und tote Oxydation" gekommen. Bei seinen Versuchen mit Eupatoriumblättern in frischem und abgetötetem ($+110^0$, -16^0, Aceton-Äther) Zustand fand er, daß sich in der Zelle auch nach dem Aufhören der plasmatischen Atmungstätigkeit Oxydationsvorgänge abspielten, die von Wiesner als „tote Oxydation" bezeichnet wurden.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIII. 1905. S. 240 ff.

[2]) Kovchoff, Revue gén. de Botanique S. 459. Ber. d. Deutsch. Ges. XXI 1903. S. 165.

[3]) T. Krasnosselsky, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIII. 1905. S. 142.

[4]) Grafe, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien 1905. S. 183 ff.

Alle diese Punkte müssen berücksichtigt werden, um die im zweiten Teil dieser Arbeit erhaltenen Resultate zu rechtfertigen. Die Ergebnisse der Krasnosselskyschen Arbeit und die „toten Kurven“ bestätigen einander. Es kann nunmehr keinem Zweifel unterliegen, daß die „toten Kurven“ diejenige Wärmeproduktion darstellen, welche unter dem Einfluß der Verletzungen einer gesteigerten enzymatischen Tätigkeit zuzuschreiben ist. An dieser Stelle mag auch gesagt werden, daß es nicht weiter wunderbar erscheint, wenn die toten Organe bei den Versuchen vor dem Schneiden keine Nullage, sondern eine konstante Ruhelage aufwiesen; die hohe Empfindlichkeit der Thermonadel zeigt eben einen individuellen variierenden Zustand der toten Oxydation an, die dann unter der Einwirkung der Verletzung gesteigert wird.

Zusammenfassend kann über die Natur der Wundwärme demnach folgendes gesagt werden:

Aus dem Vergleich der lebenden mit den toten Kurven ergibt sich, daß die nach Verletzungen auftretende Wärmeproduktion mindestens zwei, wenn nicht mehr Quellen entspringt. Einmal wird durch den traumatischen Reiz das Protoplasma in einen Zustand höherer Lebenstätigkeit versetzt. Dadurch wird die Enzymbildung eine beschleunigte, ihre Wirkung eine vergrößerte. Im unmittelbaren Gefolge davon wird eine Temperatursteigerung in dem die Wunde umgebenden Zellkomplex entstehen. Zweitens wird durch den traumatischen Eingriff der Prozeß der auf nicht enzymatischem Wege vor sich gehenden CO_2-Abspaltung eine Steigerung erfahren, mit der ebenfalls eine Temperaturerhöhung Hand in Hand geht. Drittens dürfte man eine praktisch nicht isolierbare Quelle, wenigstens anfänglich, in der Wärme zu suchen haben, die unmittelbar bei der Verletzung durch Reibung und Druck der einzelnen Zellen aneinander entsteht. (Siehe besonders Versuch XX im Anfang.) Ferner kann man nicht von der Hand weisen, daß bei der Energie rein stofflicher Umsetzungen und Neubildungen (Zerfall?) die nach Verletzungen stattfinden, ebenfalls Wärme frei werden kann. Die Richardssche Erklärung der Wundwärme kann demnach nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Die Größe und Länge der lebenden Kurven gegenüber den toten geht klarerweise daraus hervor, daß, wie schon vorhin erwähnt, im lebenden Objekt die Tätigkeit der Enzyme eine bedeutend größere und intensivere ist, als im toten, und daß dem lebenden Objekt allein, wie die Fähigkeit der fortgesetzten Enzymbildung, so auch diejenige einer CO_2-Produktion auf nicht enzymatischen Wege gegeben ist.

C. Die Ergebnisse der Arbeit sind folgende:

1. Im Pflanzengewebe tritt nach Verletzungen ein Temperaturanstieg ein.
2. Diese Temperaturerhöhung, die mit der Größe der Verwundung zunimmt, ist unmittelbar an der Wunde am größten und fällt mit der Entfernung von der Wunde ab.
3. Die Dauer der Erscheinung schwankt zwischen ½ und 3 Tagen; ihr absoluter Wert zwischen 0,02 und 0,08° bei einem Mittelwert von 0,04° (1/25° C.).
4. Das Maximum der Wundwärme tritt durchschnittlich eine Stunde nach der Verletzung ein (extreme Werte: 15 Minuten, 3 Stunden).
5. Die Einzelheiten der Erscheinung der Wundwärme variieren typisch bei den verschiedenen Klassen der Versuchsobjekte.
6. Die nach Verletzungen produzierte Wärme ist nicht einheitlicher, sondern zusammengesetzter Natur.
7. und 8. Mehr außerhalb der Arbeit stehend wurde gefunden, daß zwei lebende Objekte gleicher Art unter absolut gleichen Bedingungen **nicht** gleiche Temperaturen annehmen, sondern daß sich individuelle Abweichungen zeigen. Hälften ein und desselben Objektes nehmen dagegen stets dieselbe Temperatur an (s. Tabelle Seite 70).

D. Anhang. Protokolle, 2 Kurventafeln.

Es folgen die Protokolle der in der Arbeit als beweiskräftig angesehenen Experimente. Alle anderen, bei denen es sich, wie aus dem Text hervorgeht, um Versuche orientierender Natur handelt, sind nicht aufgeführt. Bei den Protokollen der Versuche, die sich über mehrere Tage erstrecken, sind wegen des großen Zahlenmaterials die Beobachtungen, welche sich auf den konstant abfallenden Teil der Kurve beziehen, nicht sämtlich wiedergegeben worden, wenn z. B. sechs halbstündige Ablesungen hintereinander dieselbe Zahl ergeben. Es steht dann die betreffende Ablesung nur ein einziges Mal im Protokoll. Dasselbe bezieht sich auf die Kurvenpunkte.

Versuch No. 6.

Objekt: Karotte.

Datum: 6. 7. 8. 9. April Angesetzt: 4. April 6^h p. m.
Dauer: 50 Stunden Ruhelage: —5,8
Schnitt: 6. April 2^{45} p. m.

Entfernung der Nadel von der Schnittfläche: 5 mm
Tiefe des Einstichs: 10 mm
Verwundung: mittelgroß
Bemerkungen: Verkorkung beginnt.

Temperatur im Glockeninnern	10,30°	10,00°	10,18°	9,71°	9,50°	9,50°
Zimmertemperatur	11,0°	10,6°	10,8°	10,4°	10,4°	10,2°
Ablesung	Schnitt	7. Apr. 1,45 a. m.	7. 6,15 a. m.	7. 12,45 p. m.	8. 1,30 a. m.	8. 9,45 p. m.

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt	Zeit	Skt
6. 2,55	4,3	**7.** a. m.		**8.** a. m.	
3,05	4,5	12,15	3,9	12,45	2,8
15	4,0	45	3,9	1,45	2,8
35	4,0	1,45	3,9	2,45	2,7
55	4,1	2,45	3,8	8,45	2,5
4,15	4,3	3,45	3,8	9,45	2,4
35	4,5	4,45	3,8	11,45	2,5
55	4,5	5,45	3,7	2,45	2,3
5,55	4,6	6,15	3,6	4,45	1,8
7,55	4,5	7,—	3,5	Abbruch des Versuchs.	
8,55	4,2	8,—	3,6		
9,15	4,2	10,—	3,6		
55	4,2	11,—	3,7		
10,15	4,1	p. m.			
11,15	4,1	12,45	3,6		
45	4,0	1,45	3,5		
		2,45	3,5		
		3,15	3,5		
		3,45	3,4		
		4,15	3,2		
		4,45	3,0		
		5,45	3,2		
		7,45	3,2		
		9,45	3,2		
		10,45	3,1		
		11,45	3,0		

Versuch No. 9.

Objekt: Zwei Hälften einer diesjährigen Maltakartoffel.

Datum: 25. 26. 27. April Angesetzt: 25. April 6 Uhr p. m.
Dauer: 13 Stunden Ruhelage: ± 0!
Schnitt: 26. April 3,30^h p. m.

Entfernung der Nadel von der Schnittfläche: 5,5 mm
Tiefe des Einstichs: 9 mm
Verwundung: mittel bis groß.

Temperatur im Glockeninnern	14,95°	14,89°	14,90°
Zimmer-temperatur	15,5°	15,5°	15,5°
Ablesung	Schnitt	26. 9½ p. m.	27. 4^h a. m.

Markierte Kurvenpunkte.

	Zeit	Skt		Zeit	Skt
26.	3,35	1		8,40	4,0
	40	2,5		9,10	3,9
	45	3,9		30	3,4
	50	4,9		50	3,3
	56	5,8		10,30	3,2
	4,—	6,2		11,—	2,9
	10	6,0		30	2,6
	20	6,2		12,—	2,2
	30	7,0			
	40	7,6	**27.**	30	2,0
	50	7,9		1,—	1,7
	5,—	7,9		30	1,4
	20	7,8		2,—	1,2
	40	7,1		30	1,0
	50	6,8		3,—	0,8
	6,—	6,5		30	0,4
	10	6,2		4,—	0,2
	20	5,9		30	0,0
	30	5,7			
	50	5,4			
	7,—	5,2			
	20	4,8			
	30	4,7			
	50	4,5			
	8,—	4,3			
	20	4,1			

Versuch 13 und 15[1]).

Objekt: Diesjährige und vorjährige Kartoffel.

	No. 13.	No. 15.
Datum:	4. 5. Mai	9. 10. Mai
Dauer:	3 Stunden	$4^1/_2$ Stunden
Angesetzt:	4. Mai abends	8. Mai 3.30^h p. m.
Ruhelage:	— 0,3	+ 1,3
Schnitt:	5. $3,25^h$ p. m.	9. Mai $9,15^h$ u. $10,45^h$
Entfernung der Nadel:	5 mm	6 mm u. 2 mm
Tiefe des Einstichs:	7 mm	10 mm
Verwundung:	mittel bis klein.	groß.

	No. 13.	No. 15.	
Temperatur im Glockeninnern	14,32°	15,35°	15,40°
Zimmertemperatur	15,0°	16,0°	16,0°
Ablesung	Schnitt	1. Schnitt	2. Schnitt

Markierte Kurvenpunkte.

No. 13. Zeit	Skt	No. 15. Zeit	Skt	No. 15. Zeit	Skt
3,25	—	9,15	—	11,30	7,0
26	2,0	16	2,0	40	6,4
30	1,9	20	1,8	55	5,5
35	2,1	25	2,0	12,05	5,1
40	2,6	30	2,1	20	4,5
45	2,8	37	2,2	45	4,0
50	3,0	45	2,3	1,—	4,0
55	3,2	55	2,3	15	3,9
4,—	3,3	10,15	2,1	30	3,9
10	3,5	30	2,0	45	3,9
25	3,5	45	2,0	abgebrochen.	
40	3,5	2. Schnitt			
55	3,3	10,46	6,5		
5,10	3,2	50	5,0		
45	3,1	55	5,6		
6,20	3,0	11,—	6,5		
7,—	3,0	5	7,1		
abgebrochen		10	7,5		
		15	7,7		
		20	7,5		
		25	7,2		

[1]) Versuch 14 siehe folgendes Protokoll.

Versuch No. 14.

Objekt: Zwei Hälften eines diesjährigen australischen Apfels.

Datum: 6. 7. 8. Mai — Angesetzt: 5. Mai 7,30^h p. m.
Dauer: 47 1/2 Stunden — Ruhelage: ± 0!
Schnitt: 6. Mai 9,20^h a. m.

Entfernung der Nadel: 3 mm u. 4 mm
Tiefe d. Einstichs: 9 mm
Verwundung: groß.

Temperatur im Glockeninnern	14,75°	14,79°	14,95°	14,95°	14,90°
Zimmertemperatur	15,4°	15,4°	15,4°	15,4°	15,4°
Ablesung	Schnitt	6. 2,30^h p. m.	6. 8,50^h p. m.	7. 9,10^h a. m.	8. 8,50^h a. m.

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
6. 9,20	—	2,—	4,0
21	5,2	20	4,0
25	6,0	40	4,0
30	8,5	3,—	4,0
35	9,7	30	4,1
40	10,0	4,—	4,0
45	9,9	50	3,8
50	9,5	5,50	3,7
55	9,0	6,20	3,8
10,—	8,5	50	3,8
10	7,7	7,50	3,8
20	6,8	8,50	3,9
30	6,3	7.	
40	5,8	a. m. 8,20	2,0
50	5,5	p. m. 2,50	1,8
11,—	5,2	p. m. 8,35	2,0
20	5,0	8.	
40	4,7	a. m. 8,35	± 0
12,—	4,4		
20	4,2		
40	4,2		
1,—	4,2		

Versuch No. 20 und No. 21.

Objekt: In beiden Versuchen junge diesjährige Rettige.

	No. 20.	No. 21.
Datum:	27. Mai	29. Mai
Dauer:	$5^1/_2$ Stunden	$11^3/_4$ Stunden
Angesetzt:	26. Mai mittags	27. Mai 3^h p. m.
Ruhelage:	— 6,6	— 3,6
Schnitt:	27. Mai 9^h a. m.	29. Mai 9^h a. m.
Entfernung der Nadel:	3 mm u. 6 mm	je 7 mm
Tiefe des Einstichs:	8 mm	10 mm
Verwundung:	mittelgroß	mittel

	No. 20.	No. 21.	
Temperatur im Glockeninnern	15,4°	16,3°	16,6°
Zimmer-temperatur	15,7°	17,0°	17,3°
Ablesung	Schnitt	29. Schnitt	29. 8^h p. m.

Markierte Kurvenpunkte.

No. 20. Zeit	No. 20. Skt	No. 21. Zeit	No. 21. Skt
9,—	—	9,—	—
1	6,0	1	2,5
5	2,3	2	1,8
10	2,2	5	3,2
15	2,6	10	5,6
20	2,8	15	6,7
30	3,2	20	6,5
40	3,7	25	6,2
50	3,8	35	5,7
10,—	3,8	40	4,6
2. Schnitt		50	3,8
10,05	3,9	10,—	3,0
10	4,5	10	2,4
15	5,1	30	1,7
25	5,5	50	1,3
30	5,4	11,—	1,2
40	5,2	30	1,1
11,—	4,2	1,30	1,1
15	3,8	2,30	1,1
30	3,3	3,30	1,1
12,—	3,1	5,35	0,7
2,20	1,9	7,05	0,1
abgebrochen		8,45	0,0

Versuch No. 23.

Objekt: Australische Äpfel.

Datum: 5. Juni Angesetzt: 3. Juni 3^h p. m.
Dauer: 4 Stunden Ruhelage: — 3,8
Schnitt: $9{,}30^h$ a. m.

Entfernung der Nadel: 3 mm u. 4, 5 mm
Tiefe des Einstichs: 10 mm
Verwundung: recht groß.

Temperatur im Glockeninnern: 18,0°
Zimmertemperatur: 18,2°.

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt
9,30	—
31	1,5
33	2,0
35	5,2
40	11,1
45	14,5
50	15,7
55	16,0
10,—	15,8
10	14,5
20	13,0
30	11,8
45	10,3
11,—	9,5
15	8,8
30	8,3
12,—	7,4
30	7,0
1,—	6,9
30	6,9

abgebrochen.

Versuch No. 24.

Objekt: Mairüben (Brassica rapa).

Datum: 7. 8. Juni — Angesetzt: 6. Juni $10^{1}/_{2}{}^{h}$ a. m.
Dauer: 26 Stunden 40 Minuten — Ruhelage: — 2,0
Schnitt: 7. Juni $2,20^{h}$ p. m.

Entfernung der Nadel: 4 mm und 6 mm
Tiefe des Einstichs: 12 mm
Verwundung: recht groß

Temperatur im Glockeninnern	19,1°	19,25°	19,25°
Zimmertemperatur	20,0°	20,0°	20,0°
Ablesung	Schnitt	8. 9^{h} a. m.	8. 5^{h} p. m.

Markierte Kurvenpunkte.

	Zeit	Skt
7.	2,20	—
	25	4,0
	30	5,2
	35	6,0
	40	6,3
	45	6,3
	50	6,2
	3,—	5,9
	10	5,2
	20	4,3
	30	3,8
	40	3,2
	50	2,7
	4,—	2,2
	10	1,9
	6,15	1,6
	7,—	2,0
8.	a. m. 8,20	3,0
	11,20	2,3
	12,20	1,9
	2,20	1,1
	5,—	0,0

Versuch No. 25.

Objekt: Vorjährige Kartoffel.

Datum: 9. 10. 11. Juni — Angesetzt: 8 Juni abends
Dauer: 47 Stunden — Ruhelage: + 1,8
Schnitt: 9. Juni 9,45 h a. m.

Entfernung der Nadel: 1 mm (?)
Tiefe des Einstichs: 10 mm
Verwundung: groß.

Temperatur im Glockeninnern	11,4°	11,4°	11,5°	11,4°	11,4°
Zimmertemperatur	12,0°	12,2°	12,1°	12,1°	12,1°
Ablesung	Schnitt	9. $5^1/_2$ p. m.	10. 8,30 h a. m.	10. 5 h p. m.	11. 8,45 h a. m.

Markierte Kurvenpunkte.

	Zeit	Skt		Zeit	Skt
9.	9,45	—	**10.**	a. m. 7,—	3,6
	50	4,0		9,—	3,2
	10,—	6,9		12,—	3,0
	5	6,7		p. m. 6,—	2,0
	10	7,0		9,15	1,2
	15	7,6	**11.**		
	20	8,4		a. m.	
	25	10,4		8,10	0,2
	40	11,9		8,45	0,0
	45	12,5			
	50	12,5			
	11,—	12,3			
	30	10,6			
	12,—	9,0			
	30	7,6			
	1,—	6,7			
	3,—	6,0			
	4,—	5,9			
	5,—	5,8			
	6,—	5,6			
	8,45	5,0			
	10,—	4,8			

Versuch No. 26.

Objekt: Junge diesjährige Karotten.

Datum: 26. 27. Juni — Angesetzt: 24. Juni abends
Dauer: 36 Stunden 20 Minuten — Ruhelage: + 2,7
Schnitt: 26. Juni $9{,}10^h$ a. m.

Entfernung der Nadel: 2,5 mm und 3,5 mm
Tiefe des Einstichs: 10 mm
Verwundung: klein bis mittel

Temperatur im Glockeninnern	19,82°	20,45°	20,50°
Zimmertemperatur	20,5°	20,9°	21,3°
Ablesung	Schnitt	27. früh	27. $9{,}30^h$ p. m.

Markierte Kurvenpunkte.

	Zeit	Skt
26.	9,10	—
	11	2,0
	15	3,7
	20	5,7
	25	6,1*
	30	5,5
	35	4,6
	40	3,9
	10,10	3,8
	11,10	3,7
	12,10	3,5
	2,30	3,0
	6,30	3,2
27.	a. m.	
	8,35	2,2
	p. m.	
	2,30	1,4
	6,30	1,1
	9,30	1,0

abgebrochen

Versuch No. 27.

Kontrollversuch an Kartoffeln.

Die Objekte liegen ohne die schützende Glasglocke auf der Platte P an freier Luft.

Datum: 13. Juni
Dauer: 35 Minuten
Ruhelage: schwankt langsam zwischen + 2,2 und − 3. Beim Durchgang durch O wird
Schnitt: um 4^h p. m geschnitten.

Zimmertemperatur: 20,5°.

Entfernung der Nadel: je 3,5 mm
Tiefe des Einstichs: 11 mm
Verwundung: groß.

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt
4,—	0

1. Schnitt

Zeit	Skt
4,01	— 6,0
2	∓ 0,0
3	+ 3,0
4	+ 9,0
5	+ 14,0

Schnittflächen mit Watte abgewischt

Zeit	Skt
6	— 1,0
7	— 2,0
7,5	∓ 0,0
8	+ 4,0
9	+ 10,0
10	+ 14,0

Schnittflächen wieder mit Watte abgewischt

Zeit	Skt
11	+ 7,0
12	— 1,4
13	+ 0

Zeit	Skt
4,13	∓ 0

2. Schnitt

Zeit	Skt
4,13,2	— 4,5
5	± 0,0
14	+ 8,0
15	+ 30,0

Schnittflächen abgewischt und zwischen Watte gelegt

Zeit	Skt
16,5	± 0,0
17	— 7,0
18	- 2,5
5	∓ 0,0
26	+ 36

Watte erneut

Zeit	Skt
27	+ 8
28	— 7,6

Watte endgültig entfernt

Zeit	Skt
$4{,}35^h$	+ 95

abgebrochen.

Versuch No. 28.

Objekt: Diesjährige Rettige im Thermostaten bei + 120° abgetötet in wasserdampfgesättigter Atmosphäre.

Datum: 16. Juni — Angesetzt: 15. Juni mittags
Dauer: 6 Stunden 20 Minuten — Ruhelage: — 1,8
Schnitt: 16. Juni $10{,}40^h$ a. m.

Temperatur im Glockeninnern: 16,85°
Zimmertemperatur: 15,21°

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
10,40	—	11,30	2,6
45	3,1	12,10	2,0
46	2,8	1,—	1,8
48	3,2	2,30	1,2
55	4,0	3,20	0,7
11,—	3,8	4,—	0,5
5	3,5	5,—	∓ 0,0
15	3,1		

Versuch No. 29.

Objekt: Vorjährige Kartoffeln bei — 18° abgetötet in wasserdampfgesättigter Atmosphäre.

Datum: 18. Juni. — Angesetzt: 17. Juni nachmittags
Dauer: 3 Stunden — Ruhelage: + 3,8
Schnitt: 18. Juni $9{,}15^h$ a. m.

Temperatur im Glockeninnern: 16,3°
Zimmertemperatur: 15,20°

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt	Zeit	Skt
9,15	1. Schnitt	9,45	2. Schnitt		
nach: 1 Min.	0,5	nach: 1 Min.	1,9	nach: 2 Std.	0,4
2 „	0,7	3 „	2,1	30 Min.	0,0
3 „	0,9	5 „	2,4		
7,5 „	1,6	10 „	2,4		
12 „	1,8	15 „	2,4		
15 „	1,7	20 „	2,2		
20 „	1,5	30 „	2,1		
30 „	1,5	50 „	1,4		
		1 Stunde	1,2		
		20 Min.	0,7		
		40 „	0,6		

Dauer: 2 Std. 30 Min.
\+ 30 „

Dauer: 3 Std.

Versuch No. 30.

Objekt: Durch $CHCl_3$ abgetötete Kartoffeln in dampfgesättigter Atmosphäre.

Datum: 21. Juni Angesetzt: 19. Juni abends
Dauer: 4½ Stunden Ruhelage: + 1,4
Schnitt: 21. Juni 9,16^h a. m.

Temperatur im Glockeninnern: 16,2°
Zimmertemperatur: 15,2°.

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
9,16	Schnitt	nach: 25 Min.	8,7
nach: 1 Min.	0,4	30 „	8,3
2 „	0,7	40 „	7,0
3 „	1,3	50 „	5,3
5 „	2,5	1 Stunde	4,2
7 „	4,2	20 Min.	2,9
8 „	5,1	50 „	1,6
10 „	6,4	2 Stunden	1,2
15 „	8,6	3 „	0,6
17 „	8,7	4 „	0,2
20 „	8,9	4,30 „	0,0
22 „	8,8		

Versuch No. 32.

Objekt: Durch $CHCl_3$ abgetötete Kartoffeln in dampfgesättigter Atmosphäre.

Datum: 24. Juni Angesetzt: 23. Juni 9,30^h a. m.
Dauer: 7 Stunden Ruhelage: + 1,3
Schnitt: 24. Juni 9,10^h a. m.

Temperatur im Glockeninnern: 17,63°
Zimmertemperatur: ?

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
9,10	Schnitt	nach: 30 Min.	3,4
nach: 1 Min.	1,8	40 „	3,2
2 „	2,2	50 „	3,1
4 „	3,0	1 Stunde	3,0
5 „	3,3	2 „	2,5
7 „	3,8	3½ „	1,9
8 „	4,0	5 „	1,5
9 „	4,0	7 „	0,0
10 „	3,8		
15 „	3,2		
25 „	3,		

Versuch No. 34.

Objekt: In Wasser von 90° abgetötete Kartoffeln in wasserdampfgesättigter Atmosphäre.

Datum: 30. Juni — Angesetzt: 29. Juni p. m. 4 Uhr
Dauer: nach 5 Stundeu abgebrochen — Nullage: — 1,2
Schnitt: 30. Juni 9,30^h a. m.

Temperatur im Glockeninnern: 20,0°
Zimmertemperatur: 20,5°

Markierte Kurvenpunkte.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
9,30	Schnitt	10,—	3,6
31	2,0	10	3,7
32	2,3	25	3,4
35	2,8	11,—	2,7
40	3,0	12,—	2,5
45	3,2	2,30	1,9
50	3,4	abgebrochen.	
55	3,5		

Versuch No. 37.

Objekt: Durch $CHCl_3$ abgetötete vorjährige Kartoffeln in reiner CO_2.

Datum: 7. Juli
Dauer: nicht beobachtet, da Demonstrationsversuch
Angesetzt: inklusive dreistündigen CO_2-Stroms 6. Juli 12 Uhr.
Ruhelage: + 2
Schnitt: 7. Juli 9^h a. m.
Temperatur: 20,0°.

Markierte Kurvenpunkte.

Bemerkung: Der wahrscheinliche Kurvenverlauf ist in der Tabelle durch eine punktierte Linie angedeutet.

Zeit	Skt	Zeit	Skt
9,—	— Schnitt	10,1	± 0
2	2,0	5	— 1,6
5	2,0	10	2,5
10	2,3	20	3,0
15	2,7	30	2,4
20	2,7	45	0,7
25	2,4	11,—	+ 0,4
35	1,3		
45	0,2		
10,—	+ 1,3		

Die austretende Flüssigkeit wird durch Watte weggenommen.

Versuch No. 58.

[illegible]

[illegible]

Markierte Kurvenpunkte.

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Versuch No. 60.

[illegible]

[illegible]

Markierte Kurvenpunkte.

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Versuch No. 81.

[illegible]

[illegible]

Markierte Kurvenpunkte.

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Versuch No. 82.

[illegible]

[illegible]

Markierte Kurvenpunkte.

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Erklärung zu den beiden Kurventafeln.

Aus Gründen technischer Schwierigkeiten bei der Reproduktion mußte davon Abstand genommen werden, alle Kurven in entsprechender Länge der Arbeit beizufügen.

Da nun die für die Arbeit charakteristischen Vorgänge sich in den ersten Stunden der Experimente einstellten, schien es geboten, wenigstens die Anfänge einer Anzahl von Kurven (9, 15, 21, 23, 25, 26) zu reproduzieren. Die betreffenden Kurven in der Tafel I, welche die einzelnen Versuchsnummern tragen, sind abgebrochen, sobald dieselben in einen stationären Zustand übergehen. Durch Kurve 27 wird der Kontrollversuch (s. S. 100) repräsentiert.

Um über Dauer und Verlauf eines ganzen Experimentes eine Anschauung geben zu können, ist in der Tafel I unten der Abszissenmaßstab des in seiner ganzen Länge dargestellten Versuchs 25 auf $^1/_5$ des für die übrigen Kurven angewendeten Maßstabes verkleinert. Dadurch, daß der Ordinatenmaßstab aus Gründen besserer Übersichtlichkeit unverändert geblieben ist, sieht der Kurvenabfall steiler aus, als es der Wirklichkeit entspricht. Der Anfang derselben Kurve ist in der Tafel links oben dargestellt, so daß man aus dem Vergleich bei den Reproduktionen entnehmen kann, welche Länge der Kurve 25 im oberen Maßstab entspräche und wie langsam der Abfall erfolgt.

In Tafel II sind 5 Kurven der Versuche mit abgetöteten Objekten wiedergegeben (32, 34, 37, 41, 42), die durch den Text ihre genügende Erklärung finden.

Zur Biologie einiger xerophiler Farne.

Von **Reinhold Schaede.**

(Mit Tafel III, IV.)

Wenn unter den Farnen, die sich seit ihrem Auftreten durch die relative Größe und Zartheit ihrer Blätter und besonders durch die Ausbildung der an Wasser unbedingt gebundenen geschlechtlichen Generation als Schattenpflanzen dokumentieren, auch Xerophyten nicht selten sind, so drängt sich die Frage auf, wie denn so große Gegensätze entstanden sein mögen. Der Grund dafür liegt offenbar in der leichten Verbreitungsmöglichkeit und in dem derben Membranschutz ihrer Sporen; denn wenn diese vom Winde fortgetragen werden, so gelangen sie auch auf Felsen, Bäume und andere wasserarme Plätze. Keine Gegend unserer Erde ist absolut trocken, und wenn nun ein Regen fällt, so keimen die Sporen aus, es entwickelt sich das Prothallium, der Geschlechtsapparat und schließlich die junge Farnpflanze. So sind Bedingungen gegeben, die im Verlaufe der Phylogenie einer Anpassung an neue Verhältnisse Vorschub leisten müssen. Jedenfalls haben sich die Farne für ihre Existenz ein neues Feld geschaffen, wohin ihnen aus der ungeheuren Zahl der höheren, die niederen Formen unterdrückenden und verdrängenden Pflanzen nur wenige folgen konnten. So ist es zu erklären, daß es unter den Farnen eine verhältnismäßig große Zahl von Epiphyten, Halophyten und Xerophyten gibt.

Über xerophile Farne haben bereits mehrere bekannte Forscher berichtet, und ihre Untersuchungen haben ergeben, daß die Schutzeinrichtungen dieser Farne gegen allzu starke Beleuchtung und Transpiration denen der höheren Pflanzen sehr nahe kommen. Aber es wurde auch darauf hingewiesen, daß es Farne gibt, die in ihren Schutzeinrichtungen von dem allgemeinen Typus abweichen[1]). Hierher gehören besonders diejenigen, deren Fiedern oder Stiele bei Eintritt der Trockenheit eine Krümmung oder Einrollung ausführen, und die Frage, wie diese Bewegungen zu Stande kommen und wie

[1]) Vergleiche hierzu H. Christ, Die Geographie der Farne. I. Teil, sowie die im Literaturverzeichnis angegebenen Abhandlungen von Borzi, Sadebeck in Engler-Prantl, Pflanzenfamilien, Goebel, Kramer, Saporta und Schimper.

sie mit anderen Schutzeinrichtungen in Verbindung stehen, ist bisher unbeantwortet geblieben[1]). Auch die Farne mit Schuppen- und Wachsbedeckung auf der Blattunterseite sind hier zu erwähnen; sie leben vorwiegend an trockenen, besonnten Orten, und es liegt daher nahe, zu vermuten, daß Schuppen und Wachs schützende Mittel gegen zu starke Transpiration und Insolation sind; eine Erklärung ihrer Wirkung im Zusammenhang mit den Bewegungserscheinungen ist damit aber nicht gegeben.

Meine Untersuchungen erstrecken sich auf folgende Farne. Schuppenbedeckung wiesen auf Ceterach officinarum (St. Canzian, Karst), Nothochlaena Marantae (Südfrankreich), N. sinuata (Mexiko); mit einer Wachsschicht bedeckt waren Nothochlaena nivea (Mexiko), Cheilanthes farinosa (Mexiko), Ceropteris calomelanos (Mexiko); Bewegung allein besaßen Asplenium Petrarchae (Spanien), A. trichomanes (St. Canzian, Karst), A. adulterinum (Böhmen), A. septentrionale (Istrien), A. germanicum (Istrien) und Actiniopteris radiata (Abessinien). Als Vergleichsobjekte untersuchte ich noch Asplenium viride, A. Adiantum nigrum (Böhmen) und A. serpentini (Böhmen).

Verwendet wurde fast ausschließlich getrocknetes Material. Um dies zur Untersuchung brauchbar zu machen, wurde es in kaltes Wasser gebracht, dem Formalin zugesetzt war. Diese Flüssigkeit bewirkte eine vollkommene Wiederausbreitung der Blätter, ja man konnte an ihnen die Bewegungen fast wie am lebenden Material beobachten. Zum Studium des anatomischen Baues dienten zum allergrößten Teile Mikrotomschnitte von 10 μ, die aus in Paraffin eingebettetem Material hergestellt wurden. Die Schnitte wurden mit Fuchsin gefärbt und zwar, um das Ablösen zu vermeiden, auf vereinfachte Weise, indem sie in Xylol-Alkohol gebracht wurden, dem bis zur Sättigung Fuchsin zugesetzt war. Nachdem sie dann mit Xylol-Alkohol abgespült waren, erfolgte die Einbettung in Xylol-Kolophonium in der üblichen Weise. Wenn das Gewebe auf diesen Schnitten auch häufig ein wenig kontrahiert war, so gewährten doch gerade sie einen Einblick, wie sich die Zellen bei Wasserverlust, d. h. im xeromorphen Zustand, verhalten. Auch konnten ja stets zum Vergleich Freihandschnitte hergestellt werden.

Bevor ich meine Ergebnisse mitteile, wird es nützlich sein, sich die Hauptgesichtspunkte zu vergegenwärtigen, unter denen die Xerophyten betrachtet werden müssen. Bei eintretendem Wassermangel müssen sie Gasaustausch und Lichtgenuß möglichst einschränken, denn bei ungenügender Versorgung mit Wasser und Kohlensäure würde der Pflanze das Sonnenlicht jedenfalls eher schädlich als nützlich sein.

[1]) Sadebeck in Engler-Prantl, Pflanzenfamilien, I. Abt. IV., S. 77, Xerotropismus.

Wenn nun einige Farne auf der Unterseite ihrer Blätter Schuppen- oder Wachsbedeckung tragen, so werden sie dadurch den Gasaustausch herabsetzen können, aber die Hauptsache wird die Ausschaltung der Sonnenstrahlen sein, und diese wird erzielt durch das Einrollen der Fiedern oder des ganzen Blattes nach oben, wodurch dem Eindringen des Lichtes durch dicke Schuppendecken und Wachsschichten erheblicher Widerstand entgegengesetzt wird.

Andrerseits werden bei einem Regenfall im Innern der eingerollten Blättchen und zwischen den Schuppen Tröpfchen zurückgehalten, wie es von vielen Moosen und einigen epiphytischen Bromeliaceen bekannt ist, und dieses Wasser wird für die Xerophyten einen Teil des ihnen überhaupt zur Verfügung stehenden bilden. Über die Art der Wasseraufnahme wird deshalb in einem besonderen Abschnitte berichtet werden.

Das bekannteste unter den schuppentragenden Farnen ist Ceterach officinarum. Die Bewegung und Anatomie seines Blattes hat bereits Borzì[1]) eingehend untersucht, erstere aber nicht zu erklären vermocht. Auf diese sonst ausgezeichneten Beobachtungen wird noch eingegangen werden. Es sei hier nur kurz erwähnt, daß im Trockenzustand die abwechselnd stehenden Fiederblättchen sich bei ihrer Krümmung nach oben in die gegenseitigen Zwischenräume schieben, etwa wie es die Finger beim Falten der Hände tun, während die Spitze des Gesamtblattes sich nach innen neigt. Bau und Entwickelung der Schuppen brauchen an dieser Stelle nicht erörtert zu werden, da sie bereits bekannt sind[2]). Höchst bedeutungsvoll für die Xerophyten ist aber die Eigenschaft der Schuppen, die Sonnenstrahlen zu reflektieren. Unter dem stereoskopischen Mikroskop betrachtet zeigen die Schuppen sämtlicher untersuchter Farne einen starken Perlmutterglanz, und läßt man das Sonnenlicht direkt auf sie auffallen, so ist es in Folge der Fülle des reflektierten Lichtes unmöglich, irgend etwas zu erkennen, nur eine hellglänzende Fläche ist sichtbar. Selbst eine im zerstreuten Tageslicht aufgenommene Mikrophotographie (Tafel III, Fig. 1) zeigt trotz richtiger Einstellung an einigen Stellen weiße Flecken, in denen alle Einzelheiten verschwimmen, so stark war die Einwirkung des reflektierten Lichtes auf die photographische Platte. Es unterliegt also keinem Zweifel, daß ein großer Teil des auffallenden Sonnenlichtes sogleich durch die Reflektion unschädlich gemacht wird, ein weiterer Teil beim Hindurchgehen durch die bräunlichen Schuppenlagen absorbiert und der Rest gerade genügen wird, um eine dem

[1]) A. Borzì, Xerotropismo nelli felci. Nuov. Giorn. Bot. XX. 1888. S. 480.

[2]) Sadebeck in Engler-Prantl, Pflanzenfamilien 1. Abt. IV, S. 59, und Ch. Lürssen, Die Farnpflanzen oder Gefäßkryptogamen. Rabenhorst's Kryptogamenflora III, S. 152.

herabgesetzten Gasaustausch entsprechende Assimilation zu unterhalten. Ich verweise hier auf ganz ähnliche Eigenschaften der Schuppen einiger epiphytischer Bromeliaceen, über die Baumert experimentelle Untersuchungen angestellt hat.[1])

Fast genau so ist die Schutzeinrichtung von Nothochlaena Marantae. Eine kurze Notiz über dieses Farn findet sich ebenfalls bei Borzi im Anschluß an Ceterach officinarum. Von seinen doppelt gefiederten Blättchen krümmen sich die Fiedern zweiten Grades, die äußeren Teile der Fiedern ersten Grades und das Ende des Gesamtblattes nach oben und innen. Es sei hier gleich bemerkt, daß bei der Mehrzahl der untersuchten Farne das Ende des Gesamtblattes einem der untersten Fiedern in seiner Gestalt, dem anatomischen Bau und den Bewegungen fast gleich ist.

Das ledrige Blatt zeigt in seinem Querschnitt eine aus großen, dickwandigen, ein wenig längs gestreckten Zellen bestehende obere Epidermis, deren Querwände wie bei den meisten Farnen gewellt und ineinander gekeilt sind. Diese Zellen enthalten nur hier und da einige Chlorophyllkörner. Daran schließt sich ein ein- bis zweischichtiges Palisadenparenchym, und darunter liegt ein dichtes Schwammgewebe mit sehr kleinen Interzellularen und Atemhöhlen. Die Zellen der unteren Epidermis sind denen des Schwammparenchyms ungefähr gleich, enthalten aber nur wenig Chlorophyll. Die Spaltöffnungen sind nicht versenkt, wie man es bei einem Xerophyten erwarten sollte, sondern liegen in gleicher Höhe mit den Epidermiszellen, ja sie sind mitunter ein wenig über sie emporgehoben. Da die Spaltöffnungen der untersuchten Farne noch näher besprochen werden sollen, braucht an dieser Stelle auf ihre Eigenschaften nicht eingegangen zu werden. Obere und untere Epidermis sind von einer Cuticula überzogen. Die der oberen Epidermis ist bedeutend dicker als die der unteren, und im Vergleich zur Mehrzahl der Farne, bei denen sie nur durch Behandlung mit Schwefelsäure festgestellt werden kann, ist sie als sehr dick zu bezeichnen. Wichtig ist die Anordnung der Epidermiszellen, wie bei der Erklärung des Bewegungsmechanismus gezeigt werden wird. Sie ziehen sich nämlich ganz regelmäßig in bogenförmigen, nach dem Blattgrund zu konkaven Reihen nach dem Blattrand hin.

Eine Erscheinung, die schon bei vielen Farnen beobachtet worden ist, ist der dünn ausgezogene und nach unten umgeschlagene Blattrand, der zum Xeromorphismus wohl keine Beziehung hat, sondern

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. IX. Zweites Heft. Breslau 1907. R. Baumert, Experimentelle Untersuchungen über Lichtschutzeinrichtungen an grünen Blättern.

einen Ersatz des hier mangelnden oder nur schwach ausgebildeten Indusium darstellt.

In das Zellgewebe eingesprengt fand ich bei einem Blatte dicht mit nadelförmigen Kristallen angefüllte Zellen. Oft lagen sie zu zweien bis dreien nebeneinander und bildeten einen zapfenförmigen Komplex, der durch die ganze Tiefe des Blattes von der oberen bis zur unteren Epidermis hindurch verlief. Die Nadelstruktur war besonders gut zu erkennen an Stellen, wo das Mikrotommesser die Zellwände zufällig zerrissen hatte und die Kristalle nicht so dicht lagen. In unverletztem Zustande schließen sich die Nadeln zu Sphärokristallen von gelblicher Färbung zusammen (Tafel IV, Fig. 7). Sie waren nur festzustellen an Paraffinmaterial, das also vorher in Alkohol und Xylol gelegen hatte, an anders behandelten Stücken desselben Blattes konnten sie nicht gefunden werden; sie müssen sich also im Alkohol oder Xylol gebildet haben. Bei der mikrochemischen Untersuchung zeigten sie alle Merkmale, die Zimmermann[1]) für das Glykosid Hesperidin angibt. Volle Sicherheit hierüber habe ich jedoch nicht erlangen können, denn die Untersuchung mit so geringen Mengen unter starker Vergrößerung ist recht schwierig. Äußerlich ist an den Blättern nichts von den Kristallen zu sehen, und ich habe Hunderte von Schnitten eines anderen Blattes durchmustert, ohne die Kristalle zu finden. Ob die Anhäufung eines Glykosids in gewissen Zellen mit dem Xeromorphismus zusammenhängt, kann natürlich auch nicht entschieden werden, es wären dazu Beobachtungen von frischem Material notwendig, über dessen Standort man dann auch genau unterrichtet sein würde.

Nothochlaena sinuata übertrifft das eben geschilderte Farn an Dichtigkeit und Härte des Blattgewebes, sowie an Ausbildung der Schuppendecke bei weitem. Die langen Blätter sind einfach gefiedert und besitzen zwischen den schmalen, länglichen Fiedern große Zwischenräume, wodurch sie den Sonnenstrahlen nur wenig Fläche bieten.

Bei Eintritt von Trockenheit krümmen sich die Fiedern nach oben und innen, wie man eine hohle Hand macht. Die obere Epidermis der Blätter ist von einer Cuticula überzogen, die noch viel dicker ist als die von Nothochlaena Marantae. Die Epidermiszellen selbst haben stark verdickte Wände und sind seitlich durch Tüpfel von sehr verschiedener Größe miteinander verbunden. Die Tüpfel sind im Querschnitt der Membran nicht zu erkennen, sondern nur in der Aufsicht (Tafel IV, Fig. 9). Die Zellmembran ist äußerst zähe und läßt sich mit dem Mikrotom gerade noch schneiden, in Wasser gequelltes Material ist fast wie Kautschuk schmiegsam, und nur

[1]) Zimmermann, Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892. S. 91.

solches, das längere Zeit in Formalinlösung gelegen hatte, war für Freihandschnitte brauchbar. Die Anordnung der Epidermiszellen und der Bau des übrigen Blattes entspricht dem von Nothochlaena Marantae, doch sind die einzelnen Zellen größer und das Blatt daher dicker.

Eigenartig und zweckmäßig ist das Schuppenkleid ausgebildet. Der Stiel und die Unterseite der Blätter sind von meist weißlichen Schuppen bedeckt, und die am Blattrand gelegenen sind um diesen umgeschlagen, so daß sie mit ihren Spitzen auf die Oberseite herüberragen. Sie liegen neben- und übereinander regelmäßig wie Dachziegeln. Unter diesem Dache befinden sich reich verästelte Haare von Gestalt kleiner Bäumchen; ihre Zweige sind ineinander verflochten und bilden einen dichten Filz. Diese Haare bedecken bei jüngeren Exemplaren auch die Blattoberseite mit einem dünnen, weißen Überzug. Jedes Fiederblatt ist also in eine Schicht gehüllt, in der die Luft nur sehr schwach zirkulieren kann, und die Unterseite, die Seite, die bei Trockenheit den Sonnenstrahlen dargeboten wird, ist außerdem noch von einer reflektierenden Schuppendecke geschützt.

Von den xeromorphen Farnen, die zu ihrem Schutze eine Wachsschicht auf der Unterseite der Blätter tragen, sei zuerst Nothochlaena nivea genannt. Bei diesem Farn unterscheiden sich die Pflanzen, die an sehr trockenen Standorten gewachsen sind, von denen günstigerer Plätze ganz bedeutend, aber fast nur in ihrer äußeren Erscheinung, während ihre Anatomie gleich ist. Die Exemplare von trockenen Standorten sind kleiner, weniger gefiedert, die einzelnen Fiederblättchen sind größer und dicker, und vor allem ist ihre Wachsschicht viel stärker, ja es findet sich auch eine geringe Wachsausscheidung auf der Oberseite, wo dann in Abständen kleine weiße Punkte sichtbar sind (Tafel III, Fig. 6).

Das Wachs überzieht die Unterseite aller hier vorliegenden Farne mit einer gleichmäßigen Schicht, die nur hier und da von einem Riß unterbrochen ist. Es wird ausgeschieden durch Haare von folgendem Bau. Eine längliche, auf der Epidermis aufsitzende Zelle trägt eine kopfförmige Zelle, welche das Wachs sezerniert, dessen zusammenhängende Decke infolgedessen um die Länge des Haares von der Epidermis absteht, wodurch eine luftstille Kammer geschaffen wird. Beide Zellen sind durch große Kerne ausgezeichnet, die ja sezernierenden Organen gewöhnlich eigen sind. Bei allen von mir untersuchten Wachsfarnen waren die Haare von gleicher Gestalt und nur in ihrer Größe verschieden. Das Wachs selbst hat nicht dieselbe chemische Beschaffenheit wie anderes Pflanzenwachs, denn es wird auch von wenig konzentriertem Alkohol bis auf geringe Rückstände gelöst. Es wird sich also wahrscheinlich um eine fettartige Substanz handeln. Durch den Wachsüberzug sind die Farne

natürlich nur schwer benetzbar, und man kann behaupten, daß die stark xeromorphe Form von Nothochlaena nivea überhaupt unbenetzbar ist, denn ihre Blättchen schwammen noch nach 6 Monaten auf der Formalinlösung umher.

Die Bewegung des letztgenannten Farnes ist der der Schuppenfarne gleich, jedoch viel intensiver, die Fiederblättchen rollen sich ganz in sich selbst zusammen, und an Exemplaren im xeromorphen Zustand ist von ihnen nichts zu sehen als kleine, verkrümmte, von weißem Wachs bedeckte Knötchen, von deren eigentlicher Gestalt man sich gar keine Vorstellung machen kann.

Die Anatomie der Blätter von Nothochlaena nivea ist recht einfach und bei weitem nicht so differenziert wie bei den Schuppenfarnen. Allgemein sind die Blättchen dünn und zart, von einem Palisadenparenchym kann nicht die Rede sein, sie besitzen nur ein Schwammparenchym von 4—5 Schichten mit kleinen Interzellularen und Atemhöhlen. Die Zellen der oberen und unteren Epidermis sind größer als die des Mesophyll, die der oberen wiederum größer als die der unteren, welche im Gegensatz zu den chlorophyllosen oberen Epidermiszellen einige Körnchen führen. Eine dünne Cuticula umhüllt das ganze Blatt. Die Spaltöffnungen sind ein wenig versenkt; über ihren sonstigen Bau sei auf eine spätere Stelle der Arbeit hingewiesen.

Cheilanthes farinosa ist Nothochlaena nivea im anatomischen Bau der Blätter recht ähnlich, doch findet sich in den Zellen der oberen Epidermis etwas Chlorophyll und die der unteren sind denen des Mesophyll an Größe gleich.

Die Bewegung der zweifach, in den unteren Teilen auch dreifach gefiederten Blätter erfolgt analog der bei Nothochlaena Marantae beschriebenen, und zwar, da die Blättchen zart und biegsam sind, so weit, daß nur ihre von Wachs bedeckte Unterseite von den Sonnenstrahlen getroffen werden kann.

Unter den beschriebenen Farnen nimmt Ceropteris calomelanos eine Sonderstellung ein; es hat mit ihnen eigentlich nur das Prinzip des Bewegungsmechanismus gemeinsam und weicht im übrigen gänzlich von ihnen ab. Die Bewegung selbst geht nicht von den Blättern, sondern von Teilen des Stieles aus, an den die Fiedern ersten Grades mit breiter Basis angeheftet sind. Die unteren Fiedern des Blattes sind ihrerseits gefiedert, die Fiederchen zweiten Grades verhalten sich wie die des ersten oben am Blatt. Von der Blattbasis zieht sich am Stiel, einem Flügel gleich, bis zum nächsten Fieder ein Streifen, der sich vom Stiel durch Kontraktilität, mangelnde Verholzung und geringe Bräunung, vom Blatt aber durch die quadratische Form seiner Zellen unterscheidet. Dieser Streifen ist der Träger des Bewegungsmechanismus.

Das Blatt zeigt folgenden Bau. Die obere Epidermis besteht aus langen, zylindrischen, chlorophylllosen Zellen, deren spitze Enden ineinander gekeilt sind. Sie haben dicke Außen- und Seitenwände, laufen den Blattnerven parallel vom Blattgrund nach der Spitze und dem Rande, und ihre cutinisierte Außenseite ist stark glänzend, als trüge sie einen Lacküberzug. Ein Palisadenparenchym ist nicht vorhanden, dagegen wird das Schwammparenchym vermöge seiner Gestaltung einer Armpalisade in Wirkung ungefähr gleichkommen. Seine Zellen sind länglich und zeigen nach allen Seiten regelmäßige Ausbuchtungen, welche entsprechende der Nachbarzellen berühren; dazwischen liegen enge Interzellulargänge. Alle Zellen des Mesophyll laufen denen der oberen Epidermis parallel; man kann also durch geeignete Wahl der Schnittebene ein Bild erhalten, auf dem sämtliche Zellen parallel in Reihen von gleichen, durch die Ausbuchtungen bedingten Abständen, unterbrochen von regelmäßig folgenden Interzellularen, liegen. Die untere Epidermis ist wie die obere chlorophylllos, doch sind ihre Zellen kurz, dünnwandig und tragen die Wachsdrüsen.

Die unteren Teile des Mesophyll fanden sich stets dicht angefüllt mit Stärkekörnern. Ob ein Zusammenhang dieser Erscheinungen mit dem Xeromorphismus besteht, wird sich wohl nur durch Beobachtung frischen Materials feststellen lassen. Zu erwähnen wäre auch noch, daß der Rand der Fiederblättchen ähnlich wie bei Nothochlaena Marantae nach unten umgeschlagen ist; sind die Blättchen fertil, so bilden sie zum Schutze der Sori fast eine Röhre.

Wenn so die Schutzeinrichtungen der behandelten Farne, soweit sie Schuppen- oder Wachsdecken in Verbindung mit der noch zu erörternden Einrollung betreffen, recht leicht verständlich sind, so stößt man bei anderen, die außer der Bewegung keine äußerlich sichtbaren Schutzmittel gegen Dürre und Sonnenlicht besitzen, doch auf recht erhebliche Schwierigkeiten. Ihre Bewegung ist der der Schuppen- und Wachsfarne nicht völlig gleich, wenn sie auch auf derselben Grundlage beruht. Es handelt sich mit Ausnahme von Asplenium septentrionale und Actiniopteris radiata nicht um eine einheitliche Einrollung, sondern um eine allgemeine unregelmäßige Schrumpfelung und Faltenbildung in der Längsrichtung des Blattes zwischen den Nerven in der Weise, daß die konvexen Seiten der Falten an der Oberseite und die konkaven an der Unterseite der Blätter liegen. Für diese Farne hat es ja auch gar keine Bedeutung, den Sonnenstrahlen eine bestimmte Seite darzubieten, sondern sie müssen die transpirierende Fläche möglichst verringern, da sie keinen anderen Schutz gegen Gasaustausch und Wasserverlust haben. Borzì hat in der früher genannten Abhandlung die Oberflächenverringerung resp. Zunahme in Prozenten angegeben.

Ferner wird diesen Farnen ohne Ausnahme die Fähigkeit zugesprochen werden müssen, daß sie während der Trockenperiode ihre Lebenstätigkeit so gut wie ganz einstellen, um sie unter günstigeren Bedingungen sofort wieder aufzunehmen. Solche Beobachtungen sind von Saporta[1]) an Asplenium Petrarchae gemacht worden, und alle Einrichtungen dieser Farne sprechen dafür. Da sich meine Untersuchungen vorwiegend auf einheimische, allgemein bekannte Farne erstrecken, so kann ich mich bezüglich ihrer Beschreibung und Anatomie auf das Notwendigste beschränken; nur von Aspl. Petrarchae und Actiniopteris radiata wird mehr mitzuteilen sein.

Saporta schreibt in seiner Notiz über Asplenium Petrarchae, daß dieses Farn nur an sonnendurchglühten Kalkfelsen zu finden ist, daß es während des dürren Sommers gänzlich vertrocknet erscheint und nur bei Regenfällen und im Herbst wieder auflebt. Mit einem so ausgesprochenen Xerophyten zu beginnen, wird vorteilhaft sein. Im trockenen Zustand sind seine Blätter ganz in sich gekrümmt, die einzelnen Fiederchen sind nach unten eingerollt und zusammengefaltet, dicht an den Stiel gepreßt, und lassen ihre sonstige Gestalt garnicht erkennen. Man könnte von einem solchen Exemplar schwerlich mit Gewißheit sagen, um was für eine Pflanze es sich eigentlich handelt, am wenigsten aber würde man glauben, daß es im Stande sei, in kurzer Zeit seine Lebenstätigkeit wieder aufzunehmen. Bringt man aber ein Blatt, selbst von Herbarienmaterial, in kaltes Wasser, so ist es in 1½ bis 2 Stunden vollkommen wieder ausgebreitet; andere Farne brauchen dazu ebensoviele Tage. Auffällig ist die starke Oberflächenvergrößerung; das Blatt scheint sich in die Länge gestreckt zu haben, und die Fiedern stehen jetzt dicht nebeneinander, ganz ausgebreitet, den Rand muschelförmig nach unten gebogen. Ihre Fläche ist dem Stiel nicht parallel gerichtet, sondern sie bilden nach der Horizontalen zu gedreht einen Winkel mit diesem, ganz wie bei Asplenium adulterinum und A. trichomanes.

Auch der anatomische Bau der Blättchen ist dem von A. trichomanes sehr ähnlich. Obere und untere Epidermis wie auch der Stiel tragen ein spärliches Kleid einzelliger Haare, die an ihrer Spitze kugelförmig aufgetrieben sind (Tafel IV, Fig. 8). Der Erklärung ihrer Funktion kommt ein besonderer Abschnitt dieser Arbeit zu. In den um den Blattrand gelegenen Epidermiszellen, in einigen unter den Gefäßbündeln sowie am Rande des Indusiums fand sich eine Anhäufung sehr kleiner Körnchen. Sie färbten sich mit Jod-Jodkalium dunkelbraun und mit Fuchsin intensiv blaurot, ebenso wie die

---

[1]) Saporta, G. de, Notice sur l'Asplenium Petrarchae. Bull. Soc. Bot. France XIV. 1867. S. 179.

eiweißführenden Teile der Gefäßbündel der meisten anderen Farne. Es handelt sich um Proteinkörnchen. Über ihren Zweck und Zusammenhang mit dem Xeromorphismus kann auch hier nur eine Untersuchung lebenden Materials entscheiden (Tafel IV, Fig. 2).

Auffällig sind bei allen xerophilen Asplenium-Arten die verhältnismäßig großen Interzellularräume, die in keinem Vergleich zu denen der Wachs- und Schuppenfarne stehen, bei denen sie, wie gesagt, sehr klein sind. Es erklärt sich hieraus ihre Fähigkeit weitgehendster Kontraktion und Zusammenfaltung, die bei anderen xerophilen Farnen schon durch die Dichte des Gewebes unmöglich gemacht werden würde.

Diesem Farn am ähnlichsten bezüglich seines Xeromorphismus ist das einst viel umstrittene Asplenium adulterinum, das von Sadebeck[1]) als Serpentinform von A. viride erkannt worden ist. Daß man es unbedingt unter die Xerophyten zählen muß, zeigt ein Vergleich mit seiner Stammform. Die ausgeprägte Krümmungsbewegung ist bei letzterem nicht vorhanden. Auf dem Querschnitt zeigt ein Blatt von A. adulterinum die doppelte bis dreifache Dicke eines solchen von A. viride, und der Bau seiner Spaltöffnungen schließt sich an den von A. Petrarchae und A. trichomanes eng an, wovon noch die Rede sein wird. Wohl zu beachten ist auch die Gestaltung seines Stieles, der fast bis an die Spitze dunkelbraun gefärbt ist und nur in dem obersten grünen Teile Spaltöffnungen besitzt, während sie bei A. viride über den ganzen grünen Stiel verbreitet sind.

Zum Vergleich untersuchte ich nun noch kurz ein anderes Farn und seine Serpentinform, Asplenium adiantum nigrum und A. serpentini, und fand hier ganz ähnliche Verhältnisse, besonders den gleichen Unterschied in der Dicke der Fiedern.

Wenn Borzì in seiner genannten Arbeit sagt, Asplenium trichomanes besitze eine äußerst empfindliche, zu anderen Farnen im Gegensatz stehende Art der Bewegung, so wird das jeder, der dieses Farn einmal beobachtet hat, bestätigen müssen. Denn seine Fiedern drehen sich wie mit einem Scharnier um den Stiel nach rückwärts, und erst, wenn sie ihre Unterseiten einander zugekehrt haben, beginnen sie sich etwas einzurollen.

Tatsächlich besitzt jedes der stiellosen Fiederchen eine Art Gelenk, das von seinem der Rachis ansitzenden Teile gebildet wird. Ein Längsschnitt durch den Blattgrund möglichst durch die Mitte und parallel dem Blattnerv läßt den Bau des Gelenkes erkennen (Tafel III, Fig. 2). Von den dunkelbraun gefärbten Zellen der Rachis hebt sich das Blattgewebe scharf ab, und in ihm tritt wieder der Blattnerv

---

[1]) Vergl. Lürssen, Die Farnpflanzen. Rabenhorst's Kryptogamenflora. S. 880.

hervor, der das Gewebe in zwei dem Bau nach verschiedene Teile scheidet. Der unter der oberen Epidermis liegende Abschnitt zeigt im Gegensatz zu dem der unteren anliegenden kleine Zellen, von denen nur wenige an der Rachis verdickte Wände haben. Besonders gestaltet sind aber die oberen Epidermiszellen selbst, die im Längsschnitt sehr lang und wenig hoch sind, also leicht biegsam sein werden (Tafel III, Fig. 2a). Vom Beginn der eigentlichen Blattspreite an sind die Zellen wieder höher und kürzer, dem Bau der oberen Epidermis dieses Farnes entsprechend (Tafel III, Fig. 2c). Der andere Teil unter dem Blattnerv besteht aus großen, rhombischen bis quadratischen Zellen mit größtenteils verdickten Wänden. Sie sind jedoch nicht verholzt wie die der Rachis, sondern vollkommen elastisch (Tafel III, Fig. 2b). Fast an derselben Stelle, wo die Zellen der oberen Epidermis in ihrer Gestalt wechseln, werden auch die der Unterseite kleiner und länger (Tafel III, Fig. 2c). Wenn nun Wasserverlust eintritt, so werden sämtliche Zellen eine Volumenverminderung erleiden, und zwar werden vermöge des noch zu erklärenden Mechanismus gerade die dickwandigen Zellen auf der Unterseite sich zuerst und am kräftigsten zusammenziehen. Die verholzten Teile des Blattnervs verhindern eine Bewegung des gesamten Blattgewebes auf die Rachis zu, und da die Zellen der Oberseite, durch ihre Gestalt und unverdickte Wände ausgezeichnet, leicht biegsam sind, so klappt das Blatt nach rückwärts um. A. trichomanes stellt also seine Fiedern den Sonnenstrahlen parallel und vermeidet dadurch eine zu starke Insolation.

Die letzte Gruppe der von mir untersuchten Farne weicht von den beschriebenen durchaus ab. Wohl besitzen auch ihre Blätter Bewegung, aber sie ist anderer Art und beruht auf anderer, einfacherer Grundlage, man könnte sie wohl mit den Faltblättern der Stipa- und Festuca-Arten vergleichen, denen besonders Actiniopteris radiata nahekommt, abgesehen von ihren sonstigen Eigenschaften.

Das in seiner Gestalt schon an ein Gras erinnernde Asplenium septentrionale sei hier zuerst genannt. Offenbar muß die weitgehende Reduktion seiner Oberfläche einen bedeutenden Vorteil mit sich bringen für seine Existenz in starker Besonnung an freiliegenden Felsen und Mauern, seinem gewöhnlichen Standort. Tritt der xeromorphe Zustand ein, so ist von dem Blatt dieses Farns nur ein schmales schräg-spiralig nach der Unterseite eingerolltes Band zu erkennen, das ein Laie zweifellos für einen vertrockneten Grashalm halten würde. Die Einrollung ist jedoch nur eine sekundäre Folge der eigentlichen Trockenbewegung, wiewohl sie für das Farn natürlich einen gewissen Nutzen haben kann.

Wenn A. septentrionale auch äußerlich isolateral erscheint, so ist es doch anatomisch deutlich bifacial gebaut. Die Unterseite ist

sofort an den Spaltöffnungen zu erkennen, und zwar liegen diese in seichten Rillen, die längs der Lamina und des Stieles herablaufen. Letzterer zeigt überhaupt, abgesehen von seiner geringeren Breite gleichen Bau wie die Fiedern. Neben diesen Rillen liegen Streifen von Zellen mit verdickten aber unverholzten Wänden. Auf der Blattunterseite gehören sie nur der Epidermis an und sind auch nur auf der Außenseite unter der Cuticula verdickt, auf der Blattoberseite dagegen liegen ein bis zwei Schichten ringsum verdickter Zellen hintereinander (Tafel IV, Fig. 1). Sie sind sämtlich sehr lang und haben spitze, ineinander gekeilte Enden. Ein jeder solcher Streifen bildet also ein ununterbrochenes, längs des Blattes und Stieles laufendes Sklerenchymband, das aus lebenden, elastischen Zellen besteht. Die zwischen den Bändern liegenden Partien der Epidermis setzen sich zusammen aus kurzen, unverdickten Zellen. An Ausdehnung im Verhältnis zum Umfang des Querschnittes überwiegen am Blatt die unverdickten Teile, am Stiel das Sklerenchym. Das Mesophyll wird von großen Interzellularräumen durchzogen, seine Zellen sind sehr zartwandig und wie auch die Epidermiszellen kleiner als bei den erwähnten Aspleniumarten.

Tritt Wasserverlust ein, so schrumpfelt das Mesophyll vermöge seines Baues stark, und zwar in jeder Richtung. Die Sklerenchymbänder selbst können nur sehr wenig schrumpfeln und werden durch den Volumenverlust des Mesophyll nach dem Blatt- resp. Stielmittelpunkte hingezogen. Die nicht verdickten Streifen, besonders die auf der stets zarter gebauten Unterseite, geben einem solchen Zug leichter nach und werden in das Blatt- resp. Stielinnere hineingestülpt. Dabei gelangen die von vornherein schon in Rillen liegenden Spaltöffnungen in tiefe Einbuchtungen, die schließlich beim Fortschreiten des Vorganges besonders am Stiel durch die aneinander stoßenden Sklerenchymbänder geschlossen werden (Tafel IV, Fig. 11). Die Spaltöffnungen werden also auf diese Weise in luftstille Kammern verlagert. Gleichzeitig schrumpfelt das Mesophyll aber auch parallel dem Blatt und Stiel. Die starken Sklerenchymbänder auf der Oberseite machen die Parallelkontraktion nicht mit, und es müßte deshalb eine starke Einrollung nach der Unterseite erfolgen, wenn nicht hier ebenfalls Sklerenchymstreifen und die teilweise verholzten Gefäßbündel lägen. Da diese wenig kontraktilen Elemente an Stärke dem Sklerenchym der Oberseite nicht gleichkommen, so können sie die Einrollung zwar nicht ganz verhindern, setzen ihr aber doch einen erheblichen Widerstand entgegen, so daß nur eine Krümmung, verbunden mit einem Ausweichen nach der rechten oder linken Seite, zustande kommt[1]);

[1]) Wären die Versteifungen auf der oberen und unteren Seite gleich, so könnte sich das Blatt nur nach der rechten oder linken Seite biegen. In diesem

d. h. Blatt und Stiel bilden eine Spirale, deren Windungen nicht in derselben Ebene liegen.

Asplenium germanicum, der Bastard von A. septentrionale und A. trichomanes, verhält sich ebenso, doch sind seine Bewegungen nicht so regelmäßig, die Spirale tritt weniger scharf hervor und zeigt mancherlei Abweichungen nach den Seiten.

Das von mir untersuchte Exemplar lehnte sich in Gestalt und Anatomie überhaupt sehr stark an A. septentrionale an und hatte von A. trichomanes nur größere Breite der Blattspreite und größere Zellen der Epidermis und des Mesophyll; die Sklerenchymbänder waren an den Fiedern nur schwach ausgeprägt. Der Spaltöffnungsapparat war ganz der von A. septentrionale; näheres hierüber folgt an späterer Stelle. Es unterliegt keinem Zweifel, daß andere Exemplare wiederum mehr Merkmale von A. trichomanes haben werden.

Ein Farn, das in der Eigenart seiner Schutzeinrichtungen einzig dasteht, ist Actiniopteris radiata. Das mir zur Verfügung stehende Exemplar war im Hawaschtal in Abessinien an einem Felsen gewachsen, dessen Temperatur über 50° betrug. Alles, was über diese interessante Pflanze bisher bekannt ist, findet sich in einer Notiz von Milde[1]) über ihren Platz im System der Farngattungen, und daran ist über ihre Anatomie eine kurze Bemerkung geknüpft, die aber nur teilweise richtig ist.

Schon äußerlich fällt das Farn sofort durch die Fächerform seines Wedels auf. Der doppelt geflügelte Stiel verzweigt sich nämlich an seinem obersten Ende mehrfach und geht unmittelbar in die Fiedern über, die sehr schmal und ungefähr halb so lang wie der Stiel sind und gewöhnlich an der Verzweigungsstelle ein wenig nach rückwärts übergebogen sind (Tafel III, Fig. 3). Die Reduktion der Oberfläche ist ohne weiteres erkennbar. Im xeromorphen Zustand rollen sich die Fiedern nach der Unterseite zu Röhren zusammen, und am Stiel geht eine Bewegung vor sich, die der von Asplenium septentrionale gleicht (Tafel IV, Fig. 3). Das auffallendste aber ist, daß jetzt die ganze Pflanze weiß aussieht, die sonst ein fahles Grün zeigt. Bewegung sowohl wie Farbenwechsel sind im anatomischen Bau begründet.

Ein Querschnitt zeigt folgendes Bild (Tafel IV, Fig. 5). Unter der dünnen Cuticula liegen 3—4 Schichten meist sechskantiger Fasern mit so stark verdickten Wänden, daß häufig das Lumen kaum mehr zu erkennen ist. Diese Fasern sind sehr lang und mit den spitz zulaufenden Enden ineinander gekeilt. Sie sind tot und bilden ein

---

Falle ist die Unterseite schwächer versteift, daraus folgt das Mittel zwischen der Spirale nach der rechten oder linken Seite und der nach der Unterseite, die Schneckenspirale.

[1]) Milde, Botan. Zeitung XXIV. 1866. S. 180.

die ganze Oberseite überspannendes, an den Kanten hakenförmig nach der Unterseite umgeschlagenes Sklerenchym (vgl. die Notiz von Milde, der die Zellen „sehr bastähnlich" nennt). Die Membranen zeichnen sich durch eine Härte aus, die Schnitte mit dem Mikrotom unmöglich macht, und auch Freihandschnitte lassen sich nur dann einigermaßen herstellen, wenn man das Material vorher einige Tage in Glyzerin legt. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man auf einem dünnen Querschnitt in den verdickten Membranen eine feine sternförmige Zeichnung. Man glaubt zunächst, das Zelllumen sei sternförmig gestaltet; bringt man aber den Schnitt in die Schwefelsäure, so quellen die Zellen zunächst stark, die verdickten Wände lösen sich auf, und es bleiben die Mittellamellen, die Sternchen und die Cuticula übrig. Mit Chlorzinkjod färbt sich die Wandsubstanz bläulich, die Mittellamellen und die Sternchen hellbraun, woraus zu erkennen ist, daß erstere aus Zellulose und die beiden letzteren aus Pektin bestehen. Zu dieser Reaktion braucht man einen sehr feinen Schnitt, da sonst infolge der intensiven Färbung die Durchsichtigkeit leidet und die Farbenunterschiede verschwimmen. Was die Sternchen bedeuten, zeigt ein Längsschnitt. Milde schreibt in der genannten Notiz, das Lumen der Zellen sei dicht mit sich kreuzenden Spiralfasern ausgefüllt; und es scheint zunächst auch wirklich so. Bei wechselnder Hoch- und Tiefeinstellung des Mikroskopes erkennt man jedoch, daß die Spiralbänder sich nicht kreuzen, sondern einander parallel in vielen Windungen in der verdickten Wand entlang laufen, ähnlich dem Drall eines Geschützlaufes (Tafel III, Fig. 4). Die Zacken des Sternchens sind die Querschnitte dieser Bänder. Wendet man auf einen Querschnitt Hoch- und Tiefeinstellung an, so scheinen sich die Sternchen zu drehen, und zwar alle im gleichen Richtungssinn, ein zweiter Beweis, daß die Bänder sich nicht kreuzen.

Wenden wir uns nun weiter der Anatomie des Blattes zu. Unter dem Sklerenchym liegt ein meist zweischichtiges Palisadenparenchym, dessen Zellen an Länge die des Schwammparenchyms kaum übertreffen. Letzteres wie auch die Palisade zeigt kleine Interzellularen. Auf der Unterseite des Blattes laufen unter den Gefäßbündeln ebenfalls Sklerenchymbänder, bestehend aus ein bis zwei Schichten verdickter Zellen, die denen auf der Blattoberseite ganz gleich sind. Die Sklerenchymzellen unmittelbar unter der Cuticula der Unterseite sind allermeist zu Spitzen ausgezogen, die in ihrer Gesamtheit längslaufende Leisten bilden. Zwischen den Sklerenchymstreifen liegen, wie bei Asplenium septentrionale, seichte Rillen, gebildet aus kurzen vom Schwammparenchym kaum unterschiedenen Zellen, in die die Spaltöffnungen eingelagert sind. Der Stiel ist dem Blatt ganz homolog gebaut. Seine Bauch- und Rückenseite ist vollständig mit Sklerenchym

umgeben. Nur an zwei Stellen ist es von Rillen unterbrochen, in denen die Spaltöffnungen liegen. Unter dem Sklerenchym der Rückenseite befindet sich eine dicke Schicht verholzter Zellen, die dem Stiel die Last der Fiedern an seinem oberen Ende tragen helfen.

Es ist nun sofort verständlich, daß bei Wasserverlust und Schrumpfelung des Parenchyms am Blatt die nicht ausgesteiften Streifen samt den Spaltöffnungen nach innen gestülpt werden, wodurch die Unterseite bedeutend verkürzt und das Blatt zu einer Röhre zusammengerollt wird. Ebenso werden am Stiel die beiden Flügel und der ganze Rückenstreifen nach dem verholzten Gefäßbündel hingezogen und dadurch die mit Spaltöffnungen versehenen Rillen ins Innere des Stieles gebracht und von außen geschlossen (Tafel IV, Fig. 3). Eine Längskontraktion ist infolge der starken Versteifungen am Stiel wie am Blatt unmöglich. Auch bei diesem Farn beruht also die Schutzeinrichtung gegen zu hohen Gasaustausch auf Verlagerung der Spaltöffnungen in luftstille Räume, begleitet von einer Reduktion der Oberfläche.

Was nun das zweite, nicht minder wichtige Schutzmittel, den Farbenwechsel, anbelangt, so war ich lange darüber im Zweifel, bis ich einmal ein wasserdurchtränktes, also grünes Blatt unter dem stereoskopischen Mikroskop bei auffallendem Licht stark vergrößerte. Das Bild war überraschend, denn man kann durch das Sklerenchym hindurch die darunter liegende Palisade deutlich erkennen; es ist als läge über dem Mesophylll eine dünne Glasplatte. Von den Spiralbändern und den Mittellamellen ist nichts zu sehen. Während der Beobachtung gab das Blatt natürlich seinen Wassergehalt an die Luft ab, und plötzlich, noch ehe die Einrollung eintrat, zeigten sich in den eben noch durchsichtigen Zellen feine, zu ihrem Verlauf schräg stehende Streifen, die ich mit den Spiralbändern identifizieren konnte, und in kurzer Zeit war das ganze Sklerenchym undurchsichtig und weiß (Tafel III, Fig. 8). Setzte man Wasser hinzu, so wurde alles wieder durchsichtig, um beim Austrocknen den beschriebenen Vorgang zu wiederholen.

Die Nutzwirkung dieser Einrichtung ist einleuchtend. So lange die Pflanze über genügenden Wassergehalt verfügt, können die Lichtstrahlen ungehindert durch das Sklerenchym in das Blattinnere eindringen und ihre chemischen Wirkungen ausüben; kann die Pflanze dagegen den dabei entstehenden Wasserverlust nicht mehr ersetzen, so wird eine undurchsichtige Schicht vor das Parenchym geschaltet, das Licht am Eintritt in das assimilierende Gewebe verhindert und, wie die weiße Färbung zeigt, zum größten Teile abgeblendet zwecks geringerer Erwärmung.

Der beschriebene Versuch wurde nun mit dem Sklerenchym allein

wiederholt, indem Stücke von einem trockenen Blatte abgelöst und von den anhaftenden Mesophyllresten gesäubert wurden. Unter dem Mikroskop bei durchfallendem Licht waren die Splitter natürlich undurchsichtig. Ließ man nun einen Tropfen Wasser unter das Deckglas treten, so wurde der Splitter sofort durchsichtig, die Spiralbänder waren deutlich zu sehen und in den Zelllumina befanden sich lange, dunkle Stellen, die immer kleiner wurden und schließlich ganz verschwanden, während um den Splitter herum sich Luftblasen bildeten. Es konnte kein Zweifel sein, daß die dunklen Streifen in den Lumina Luftblasen waren, die beim Zutritt des Wassers aus den Zellen heraustraten. Die Frage war nun, auf welche Weise und an welchen Stellen das geschah. Durch die sonst gasdurchlässige Cuticula trat die Luft nicht aus; legte man aber den Splitter so, daß man auf die dem Mesophyll anliegende Seite sah, so sah man in dem Maße, wie die Luftblasen in den Lumina kleiner wurden, Bläschen auf der Außenseite auftreten und sich vergrößern. Der ganze Vorgang spielt sich so schnell ab, daß man sich mit einem Wechsel des Objektivrevolvers und der Einstellung sehr beeilen muß.

Angeregt durch eine Arbeit von Steinbrink[1]) machte ich mich nun daran, einen Querschnitt des Sklerenchyms in trockenem und in wasserdurchtränktem Zustande zu untersuchen. Die Herstellung so feiner Schnitte, wie sie zu diesem Versuch nötig sind, gestaltet sich infolge der Härte und Sprödigkeit des Materials sehr schwierig, am besten nimmt man dazu mikroskopisch feine, beim Schneiden zufällig entstehende Splitter. Sie wurden ausgetrocknet, und, um sie durchsichtig zu machen, in Anilinöl gebracht, worin die Membranen nicht quellen. Das Öl läßt sich später leicht auswaschen, und derselbe Schnitt kann so auch im Wasser untersucht werden. Den Unterschied zwischen beiden zeigt Tafel IV, Fig. 4a und b. Im trockenen Zustande haben die Zellen weite Lumina, die sich bis in die Zacken der Sternfiguren (den Querschnitt der Spiralbänder) hinein erstrecken, und oft fast bis zur Mittellamelle reichen. Im Wasser quillt der ganze Schnitt stark, die Zacken werden durch die sich imbibierende Zellulosemembran geschlossen und das ganze Zelllumen verschwindet namentlich in den Zellen unter der Cuticula bis auf geringe Reste. Daß ein solcher aus dem Zellverband genommener Splitter die Vorgänge in der lebenden Pflanze nur zum Teil wiedergeben kann, ist selbstverständlich, und deshalb darf man annehmen, daß die Lumina im Sklerenchym unverletzter Pflanzen ganz verquellen.

---

[1]) Steinbrink, Über die Ursache der Krümmungen einiger lebender Achsenorgane infolge von Wasserverlust. Berichte der deutschen Botan. Ges. 29. Jahrgang, Heft 6.

Der Vorgang des Farbenwechsels spielt sich nun folgendermaßen ab. Wenn dem Farn Wasser in genügender Menge zur Verfügung steht, so sind die Zellulosemembranen des Sklerenchyms mit Wasser durchtränkt und die Lumina so gut wie nicht vorhanden. Die ungefärbte, dicke Zellulosewand, die aus Pektin bestehenden Mittellamellen und die innere Auskleidung der Zellen (die Sternchen im Querschnitt) haben ungefähr den gleichen Brechungsindex, und daher ist die ganze Schicht durchsichtig. Erleidet die Zellulosemembran einen Wasserverlust, so vergrößern sich die Lumina und es wird Luft aus den Interzellularen des Mesophyll eingesogen. Nunmehr werden die Strahlen bei ihrem Auffallen auf die lufterfüllten Spiralbänder und Lumina größtenteils reflektiert, wodurch die weiße Färbung zustande kommt (Tafel III, Fig. 7 und 8). Bei neuer Wasserzufuhr wird die Luft wieder in die Interzellularen ausgepreßt.

Danach müssen Kanäle aus dem Sklerenchym durch die Mittellamellen in das Mesophyll führen. Diese mit voller Sicherheit unter dem Mikroskop zu zeigen, ist mir nicht gelungen, da das Material die Herstellung so dünner Schnitte verhindert, auf denen sich solche feine Einzelheiten einwandfrei nachweisen ließen. Daß die Kanälchen aber vorhanden sein müssen, kann man auf folgende Weise ermitteln. Ich versah Sklerenchymsplitter mit einem Kollodiumüberzug, der an einer Stelle unterbrochen war, um das Wasser herantreten zu lassen, legte sie auf einen Objektträger, die nichtkutinisierte Seite nach oben und ließ dann Wasser unter das Deckgläschen treten. Die Auspressung der Luft ließ sich so bequem beobachten, und feststellen, daß die Luft teils die Kollodiumschicht abhob, teils aber über dieser Bläschen bildete, die mit einem fein ausgezogenen Ende auf dem Splitter aufsaßen. An diesen Stellen mußten also die Kanäle ausmünden. Andere Splitter wurden in einem Gläschen in einen mit etwas Salmiakgeist gefüllten Rezipienten gebracht und dann evakuiert, wodurch die Luft aus den Splittern entfernt wurde und Ammoniak dafür eintrat. Dann wurden sie in der angegebenen Lage beobachtet, und zwar unter Zusatz einer Kupfersulfatlösung. Das Auspressen, diesmal von Ammoniak, spielte sich zunächst wie immer ab, dann aber stand der ganze Vorgang plötzlich still, und man konnte im Umkreis der entstandenen Bläschen deutlich eine bläuliche Niederschlagsmembran erkennen.

Der Druck der sich vollsaugenden Zellen reichte also nicht mehr aus, um die Niederschlagsmembran zu sprengen, wodurch neues Ammoniak mit Kupfersulfat in Berührung gekommen wäre und die Blasen sich hätten vergrößern können. Wäre das Ammoniak auf andere Weise als durch bestimmte, gleichmäßig geöffnete Kanäle ausgetreten, so hätten nicht einzelne Bläschen entstehen, sondern entweder der ganze Splitter sich gleichmäßig mit einer Niederschlagsmembran

umgeben müssen, oder es hätten sich an anderen Stellen neue Blasen bilden müssen, sobald die ersten nicht mehr wachsen konnten.

Eine Pflanze mit einer ähnlichen optischen Vorrichtung dürfte wohl bislang nicht bekannt geworden sein.

Eine Eigenschaft, die allen von mir untersuchten Farnen zukam und die zweifellos große Bedeutung für ihr Leben haben wird, ist die intensive Braunfärbung des Stieles und teilweise auch der Blattnerven. So haben Nothochlaena Marantae, N. nivea, Cheilanthes farinosa, Ceropteris calomelanos, Asplenium Petrarchae und A. trichomanes fast schwarze Stiele. Auch ihre Blattnerven sind auf der Unterseite schwarz-braun gefärbt und zwar in ihrem ganzen Verlauf durch das Blatt, während sie auf der Oberseite bald die grüne Färbung annehmen. Namentlich bei den Wachsfarnen ist diese Erscheinung sehr auffallend, das Schwarz der Rippen hebt sich scharf von dem weißen Wachs ab. Hier hätten doch auch die Rippen mit Wachs überzogen sein können, wenn es nicht auf etwas anderes ankäme. Sind die Stiele bei anderen Farnen nur hellbraun, so sind ihre Gefäßbündel von einer Schicht dunkler Zellen umgeben, wie bei Ceterach officinarum, oder sie tragen Schuppenbedeckung, wie Nothochlaena sinuata sie zeigt. Interessant ist das Verhalten der Serpentinform Asplenium adulterinum und des Bastards A. germanicum. Ersteres sieht äußerlich in Farbe des Stieles A. trichomanes ganz ähnlich, doch sind nur seine äußersten Zellschichten braun, während bei A. trichomanes das Stielgewebe durchweg gefärbt ist. Bei A. germanicum ist der untere Teil des Stieles schwarzbraun, eine Erbschaft von A. trichomanes. Selbst Actiniopteris radiata, das doch eine so vollkommene Einrichtung zur Abblendung der Sonnenstrahlen besitzt, macht für die unteren Teile des Stieles von der braunen Schutzfärbung Gebrauch.

Die Braunfärbung der Stiele und Rippen, die bei vielen Farnen vorkommt, oft aber auf die im Boden steckenden Teile beschränkt ist (vgl. Pteridium aquilinum), ist als Schutzeinrichtung gegen Tierfraß, besonders Schnecken, aufzufassen, denn sie beruht auf einer Infiltration der Membranen und teilweise auch der Cytoplasten mit übel schmeckenden und härtenden Substanzen. Einen solchen Schutz brauchen auch die Xerophyten.

Es ist aber auch anzuerkennen, daß die braunen Zellschichten einen Lichtschutz bedeuten, besonders noch, weil sie oft eine spiegelnde Oberfläche haben. Allerdings werden sie eine gewisse Wärmespeicherung veranlassen, die eine stärkere Verdampfung des Wassers in der Pflanze zur Folge haben muß. Da aber in allen untersuchten

Fällen an den braunen Teilen Spaltöffnungen vollständig fehlten — grüne Stiele, selbst die der extrem-xerophilen Actiniopteris radiata, haben reichlich Stomata — so kann hier die Erwärmung insofern keine große Schädigung bedeuten, als ja die Durchtrittsstellen für den Wasserdampf fehlen. Da ferner die durch braune Schutzschichten gedeckten Gewebeteile für die Assimilation nicht mehr in Betracht kommen können, so ist hier das Fehlen der Spaltöffnungen durchaus erklärlich. Wo die Rippen nur unterseits braun, oberseits dagegen grün sind, vermögen sie mit den für die Assimilation besser gelegenen Teilen an dieser mitzuwirken.

Daß aber Tierfraß auch für die Xerophyten eine besondere Schädigung darstellt, wenn die Stiele und Rippen betroffen werden, ergibt sich daraus, daß bei diesen Pflanzen die Lamina oft, das Traggerüst nie reduziert ist.

Sehr bedeutungsvoll wird für die Farne die Frage sein, wie sie es ermöglichen, aus dem ausgedörrten Zustande in verhältnismäßig kurzer Zeit zur vollen Lebenstätigkeit zurückzukehren. Meine Angaben hierüber können freilich nur oberflächlich sein; die Beobachtungen müssen unbedingt an frischem Material und am besten am Standort ausgeführt werden, und sie würden schon allein eine große Arbeit erfordern.

Meine Untersuchungsmethode war die, daß ein Teil der Blätter in eine feuchte Kammer gebracht und Taubildung dabei möglichst vermieden wurde. Andere Blätter wurden freistehend nur mit dem Stiel in Wasser getaucht. Da zeigte sich, daß für einige Arten der Wasserdampf genügte, um ihnen die ursprüngliche Form wiederzugeben, und daß für andere flüssiges Wasser unbedingt nötig war.

Es muß also angenommen werden, daß die Oberfläche dieser Blätter trotz ihrer Kutikularbekleidung für Wasserdampf durchlässig ist. Auch wenn z. B. Blätter von Asplenium trichomanes auf der Unterseite mit einem Kollodiumhäutchen überzogen und so die Spaltöffnungen ausgeschaltet wurden, breiteten sie sich in der feuchten Kammer doch wieder aus, wodurch die Kollodiumschicht schließlich teils abgesprengt und teils zerrissen wurde. Hier mußte also der Wasserdampf durch die kutinisierte Oberseite eingedrungen sein.

Sehr abweichend von einander verhielten sich die Wachsfarne. Für Cheilanthes farinosa reichte Wasserdampf zur Ausbreitung aus. Für Nothochlaena nivea aber war das Eintauchen des Stieles in flüssiges Wasser unerläßlich.

Für Ceterach officinarum und Nothochlaena Marantae vermitteln die Schuppen die Wasseraufnahme. Sie halten das Wasser kapillar

fest, werden zuerst durchtränkt und geben dann ihren Wassergehalt an das Blattgewebe weiter. Bringt man Blättchen dieser Farne in eine schwache Fuchsin- oder Methylenblaulösung, so sind die Schuppen zuerst gefärbt.

Andere Farne, die nur flüssiges Wasser aufnahmen, waren Asplenium septentrionale, bei dem es in den Rillen hochgesogen wurde, und Actiniopteris radiata, das sich nur dann ausbreitete, wenn Wasser in die Mündungen der röhrenförmig zusammengerollten Blätter gelangte. Hier wurden die Tropfen dann kapillar hineingesogen und benetzten die ungeschützten Teile. Ein Befeuchten der Außenflächen allein erwies sich als ganz erfolglos.

Asplenium Petrarchae besitzt zur Aufnahme flüssigen Wassers besondere Organe in Gestalt der Haare, die, wie erwähnt, seine Blättchen und den Stiel bedecken (Tafel IV, Fig. 8). Von vornherein war es klar, daß sie keinen Transpirationsschutz bedeuten konnten; dazu stehen sie in viel zu großen Abständen. Auch als sezernierende Drüsenhaare kamen sie nicht in Betracht, da ein Sekret gänzlich mangelt. Nun stellt aber gerade A. Petrarchae, in Wasser gelegt, seine Form in kürzester Zeit wieder her, wie berichtet worden ist, und so lag es nahe, den Haaren die Wasseraufnahme zuzuschreiben. Von der Richtigkeit dieser Annahme kann man sich leicht überzeugen, wenn man Blättchen in dünne Fuchsin- oder Methylenblaulösung legt. Die Haare sind dann in kurzer Zeit rot resp. blau gefärbt, und der Farbstoff verbreitet sich von der Ansatzstelle der Haare aus in dem Maße, wie das Wasser eindringt, rasch durch das ganze Mesophyll. Bei abgeschnittenen Blättern anderer Farne dringen die Farbstoffe nur ganz allmählich durch die Gefäßbündel in das Blattinnere ein. In der feuchten Kammer braucht A. Petrarchae zur Ausbreitung seiner Blätter ebensoviel Zeit wie die anderen Farne.

Die Untersuchung der Spaltöffnungen gestaltete sich sehr interessant und ergab ganz neue Resultate. Auffallend ist zunächst, daß sie nicht versenkt sind, wie es bei Xerophyten sonst die Regel ist, sondern niemals tiefer liegen, als die Zellen der unteren Epidermis und manchmal sogar über diese emporgehoben sind. Bei den Schuppen- und Wachsfarnen sowie denen mit Faltblättern ist diese Eigenschaft noch verständlich, weil sie ihre Spaltöffnungen in luftstille Kammern bringen; bei den übrigen dagegen ist die Erklärung nicht so leicht gegeben. Der Grund ist sicher darin zu suchen, daß bei den hier vorliegenden Farnen die Stomata nicht vorwiegend durch Turgorschwankungen in den Schließzellen geöffnet und geschlossen werden,

sondern durch Zerrungen und Stauchungen der unteren Epidermis, hervorgerufen durch die Volumenabnahme des Blattes.

Schon die Orientierung der Spalten deutet darauf hin; sie liegen mit ihrer Längsachse parallel den Blattnerven. Bei so einheitlicher Krümmung der Blättchen nach oben, wie sie Ceterach officinarum, Nothochlaena Marantae, N. sinuata, N. nivea und Cheilanthes farinosa besitzen, wird auf die untere Epidermis ein Zug ausgeübt parallel den Blattnerven und damit auch der Längsrichtung der Spaltöffnungen, wodurch diese infolge der Längsspannung der nierenförmigen Schließzellen zum Schluß gebracht werden. Man kann diesen Vorgang sehr gut nachahmen, indem man in einen weichen Leder- oder Gummilappen einen Schlitz schneidet; zieht man nun an dem Lappen parallel zur Schnittrichtung, so werden seine Ränder aneinandergepreßt, zieht man quer, so klaffen sie natürlich auf. Bei den anderen Farnen mit Krümmung und Faltung nach der Unterseite werden die Stomata durch Stauchung der unteren Epidermis und seitlichen Druck geschlossen, denn, wie gesagt, zeigen die meisten Aspleniumarten eine starke Längsfaltung, die durch Schrumpfelung des Gewebes quer zur Längsachse der Blätter bedingt ist.

Die Gestalt der Schließzellen ist in den meisten Fällen einem passiven Schluß besonders angepaßt, und die Wachsfarne bilden hier eine merkwürdige Gruppe für sich. Die beiden Schließzellen sind nämlich gewöhnlich nicht gleich gestaltet, sondern den Vorwölbungen der einen entsprechen Vertiefungen in der anderen, so daß sie beim Schluß genau ineinander passen. Die Verdickungsleisten sind nur schwach ausgeprägt und haben oft nasenförmige Vorsprünge, die gleichfalls ineinander eingefalzt sind.

So gestaltet sind die Spaltöffnungen von Asplenium trichomanes (Tafel IV, Fig. 12), A. Petrarchae, A. adulterinum, das also auch hierin A. trichomanes ähnelt und Ceterach. Bei Nothochlaena Marantae (Tafel IV, Fig. 6) konnte ich auf 45 Schnitten nur eine symmetrisch gebaute Spaltöffnung finden, alle übrigen zeigten den beschriebenen Bau.

Nothochlaena sinuata hatte beide Arten ungefähr im gleichen Verhältnis, bei Asplenium adiantum nigrum und seiner Serpentinform überwogen die symmetrischen. Auch Actiniopteris radiata gehört in diese Gruppe.

Symmetrisch gebaut waren die Schließzellen von Asplenium septentrionale (Tafel IV, Fig. 11) und A. germanicum. Dieser Bastard folgt durchaus A. septentrionale, besonders kehrt der eigenartige Knick in der Mitte des Querschnittes der Schließzellen typisch wieder.

Die drei von mir beobachteten Wachsfarne haben ganz rückgebildete Spaltöffnungen, von Verdickungsleisten sind nur hin und wieder Andeutungen zu erkennen (Tafel IV, Fig. 10). Bei einem

Xerophyten muß ein solches Verhalten zunächst sehr merkwürdig erscheinen. Man bedenke jedoch, daß diese Farne sozusagen noch eine zweite Epidermis von Wachs auf ihrer Unterseite tragen, und wenn diese trotz der schädigenden Einflüsse des Pressens, des Transportes und der Präparation für die Untersuchung noch fast unverletzt war und nur wenige Risse zeigte, so muß man annehmen, daß sie am lebenden Farn nur so viel Öffnungen besitzt, als die Pflanze zum Gaswechsel gerade notwendig hat. Dadurch wird eine feine Regulierung durch die Spaltöffnungen überflüssig, die deshalb degenerieren können.

Aus den vorliegenden Verhältnissen kann man schließen, daß die asymmetrische Ausbildung der Schließzellen als ein durch die Xerophilie erworbenes Schutzmittel zu betrachten ist; denn gerade die Arten, die keine besonderen Einrichtungen zur Herabsetzung des Gaswechsels besitzen, müssen ihre Spaltöffnungen möglichst vollständig verschließen können. Die Farne aber, deren Gasaustausch schon durch luftstille Kammern stark gehemmt ist, brauchen darauf weniger Gewicht zu legen, und so hat denn die durch eine doppelte Schicht von Schuppen und Haaren wohlgeschützte Nothochlaena sinuata die regelmäßigen Schließzellen zur Hälfte, Asplenium septentrionale und A. germanicum sie ganz bewahrt, während die Wachsfarne sie sogar rückgebildet haben. Wenn zwischen den einzelnen Gruppen auch Übergangsformen und vereinzelte Rückschläge vorhanden sind, so kann das die Theorie nur bestätigen.

Der letzte Teil der Arbeit möge nun die Erklärung des Bewegungsmechanismus bringen, der allen an dieser Stelle untersuchten Farnen mit Ausnahme von Asplenium septentrionale und Actiniopteris radiata gemeinsam ist. Bisher ist über die Frage, wie die Bewegungen zustande kommen, und warum die Blätter der einen nach oben, die anderen aber nach unten sich krümmen, nichts bekannt gewesen[1]), nur Borzi ist der Lösung durch seine Untersuchungen an Ceterach officinarum in der schon öfters genannten Arbeit nähergetreten.

Nach den Veröffentlichungen von Steinbrink über Schrumpfungs- und Kohäsionsmechanismen[2]) war ich anfänglich der Meinung, daß auch die Bewegungen dieser Farne durch Kohäsionsmechanismen in der Epidermis bedingt seien. Bald aber ergaben sich erhebliche Schwierigkeiten. Denn wie wäre es in Voraussetzung eines Kohäsionsmechanismus möglich, daß die Zellwände der oberen resp. der unteren

[1]) Vergl. Engler-Prantl, Pflanzenfamilien I. Abt. IV. Xerotropismus. S. 77.

[2]) Steinbrink, Über Schrumpfungs- und Kohäsionsmechanismen von Pflanzen. Biolog. Zentralblatt Bd. XXVI. 1906.

Epidermis sich gerade nach außen ausstülpten, wie Borzi an Ceterach officinarum gezeigt hat und wie man es an jedem anderen Farn bei richtiger Wahl der Schnittebene nachprüfen kann. Es hätten doch die Zellwände sich nach innen einbiegen müssen; die Ringzellen der Sporangien zeigen das ganz deutlich. Wie wäre es zu erklären, daß alle Krümmungen am toten, wieder erweichten Herbarienmaterial ebenso zu beobachten waren wie am lebenden? Nach Zerstörung des Plasmas hätte eine Schrumpfelung nur noch in sehr beschränktem Maße vor sich gehen können. Und wie war es schließlich denkbar, daß gerade die Zellen mit den dicksten Membranen zuerst reagierten; man denke nur an Nothochlaena sinuata (Tafel IV, Fig. 9) und an das Blattgelenk von Asplenium trichomanes (Tafel III, Fig. 2); hier hätte doch zuerst das Schwammparenchym schrumpfeln müssen, das viel eher einen Wasserverlust erleiden muß, als diese wandverdickten Zellen. Besonders ging die Bewegung auch vor sich an Schnitten, bei denen die Epidermiszellen verletzt waren, die also nicht schrumpfeln konnten. All' dies hat Borzi durch seinen Versuch unbestreitbar nachgewiesen, und auf die von ihm gefundenen Tatsachen konnte ich aufbauen.

Es fiel mir auf, daß sich die nach außen biegenden Außenseiten der Epidermiszellen genau so verhalten wie die Steinbrinkschen Schrumpfungsmechanismen, bei denen zwei Membranen mit senkrecht zueinander gerichteten Schichtungslinien gegeneinander wirken. Und in der Tat sind ja zwei Membranen vorhanden, die Cuticula und die Zelluloseschicht. Man könnte zunächt Zweifel erheben, ob das dünne Häutchen der Cuticula der viel dickeren Zellulosewand bei ihrer Schrumpfung den nötigen Widerstand entgegenzusetzen fähig ist, damit die Ausstülpung zustande kommt. Folgender einfache Versuch aber muß alle Bedenken beseitigen. Ich suchte die Epidermis nachzuahmen und schnitt aus einem Papier, dessen Tauglichkeit für die Steinbrinkschen Versuche ich vorher erprobt hatte, 2,5 cm breite Streifen, deren größte Dehnungsfähigkeit längs verlief, deren Hauptfaserrichtung also senkrecht durchschnitten war. Aus den Streifen klebte ich Zellen von 2,5 cm Seitenlänge. Zwei Seitenwände blieben ungeschlossen wie auf einem dünnen Querschnitt, und alle Zellen wurden nun aneinandergeklebt, so daß die Flächen, an denen bei der Herstellung der Zellen das Papier übereinandergriff, alle nach einer Seite lagen. Sie sollten die Innenseiten der Epidermiszellen darstellen. War die so entstandene Reihe gut getrocknet, so legte ich sie in Wasser, bis das Papier durchtränkt war, der Klebstoff aber noch nicht gelitten hatte. Darauf wurden die Zellen äußerlich schnell mit Fließpapier abgetrocknet, an der Oberseite mit Klebstoff bestrichen und mit einem Streifen dünnen Fettpapiers beklebt. Namentlich der letzte Handgriff muß sehr schnell und sicher erfolgen, da das Fettpapier auf der durchfeuchteten Zell-

reihe schlecht haftet, letztere aber auch schon zu trocknen beginnt. Wenn das Fettpapier der Zelloberseite tadellos anliegt, so wird die fertige künstliche Epidermis zum Trocknen hingelegt, und alsbald beginnt die Ausstülpung der „cutinisierten“ Wände und die Krümmung der ganzen Zellreihe nach außen (Tafel III, Fig. 5a u. b).

Das Modell verhält sich ganz so wie die natürliche Epidermis. Die Cuticula ist wasserfrei, die Zelluloseschicht mit Wasser gesättigt; sobald nun diese einen Teil ihres Wassers abgibt, verkleinert sich ihr Volumen und es tritt eine Spannung zwischen ihr und der Cuticula ein, die in der Ausstülpung ihren Ausgleich findet. Das Experiment kann freilich nur eine schwache Wiedergabe der Natur sein. Steinbrink hat gezeigt, wie fein solche Mechanismen auch auf minimale Schwankungen des Wassergehaltes reagieren. Sicher ist jedenfalls, daß die Kontraktion der Epidermis durch einen Schrumpfungsmechanismus eingeleitet wird und daß erst bei fortschreitendem Wasserverlust auch ein Kohäsionsmechanismus in Kraft tritt.

Damit wäre zunächst nur die Bewegung der Epidermis allein erklärt. Für die Einrollung des ganzen Blattes nach oben oder unten bedarf es noch besonderer Einrichtungen, die bei den einzelnen Arten verschieden sind. Ceterach officinarum, Nothochlaena Marantae und N. sinuata mit ihren ledrigen Blättern schalten in diese eine Schicht ein, die der einfachen Parallelkontraktion der Epidermis entgegenarbeitet. Bei dem Modell wird diese Schicht durch die verstärkten Innenseiten der Zellen dargestellt, fehlte sie, so würden durch den Druck der bei der Ausstülpung sich kontrahierenden Außenseiten auch die Innenseiten zur Ausstülpung gezwungen werden; da das durch die Versteifung verhindert wird, erfolgt die Krümmung der ganzen Zellreihe nach außen. Bei den genannten Farnen wird die Versteifung hauptsächlich von dem Palisadenparenchym dargestellt, das wegen der geringen Verbreitung der Interzellularräume und der regelmäßigen Lagerung seiner Zellen nur wenig gedehnt oder gestaucht werden kann. Die Zellen der oberen Epidermis suchen nun diese biegsame Schicht zu verkürzen, und da das nicht möglich ist, krümmt sich das ganze Blatt nach der Oberseite, wobei das leicht dehnbare Schwammparenchym und die Epidermis eine Streckung erfahren (vergleiche auch hier die Beobachtungen von Borzì). Ebenso gehen die Bewegungen des Stieles von Ceropteris calomelanos und des Blattgelenkes von Asplenium trichomanes vor sich, bei ersteren wirken die verholzten und die kontraktilen Stielteile antagonistisch, bei letzteren vertauschen obere und untere Epidermis ihre Rollen. Nicht zum mindesten trägt zu der so einheitlichen Krümmnng der Fiedern von Nothochlaena Marantae und N. sinuata die erwähnte bogenförmige Anordnung der oberen Epidermiszellen bei, denn dadurch wird der Zug stets genau

in einer längs des Blattes laufenden Richtung ausgeübt und der Zug quer zum Blatt, der bei Ceterach officinarum schon etwas hervortritt, fast ausgeschaltet.

Bei den Farnen, deren Blätter keine Versteifungsschicht besitzen, sind zweierlei Möglichkeiten vorhanden. Sind die Zellen der oberen Epidermis im Verhältnis zum Mesophyll sehr groß, wie es bei Nothochlaena nivea und Cheilantes farinosa der Fall ist, so ist die Kontraktion der oberen Epidermis zu stark, als daß das übrige Gewebe ihr folgen könnte, und darum krümmt sich das Blatt nach der Oberseite. Natürlich spielen hier, wie auch bei der ersten und der noch folgenden Gruppe die Blattnerven ebenfalls eine nicht zu unterschätzende Rolle. Aber die Bewegung der eben genannten beiden Farne ist nicht mehr so einheitlich dem Blatt längs gerichtet wie bei den Schuppenfarnen und die Querkontraktion ist schon deutlich ausgeprägt, die bei der folgenden, letzten Gruppe fast in den Vordergrund tritt.

Hierher gehören Asplenium adulterinum, A. trichomanes und A. Petrarchae. Obere und untere Epidermis führen bei ihnen die gleiche Kontraktion aus, denn deren Zellen sind fast gleich groß. Für die Richtung der Krümmung ausschlaggebend ist, daß an der Unterseite die größeren Interzellularen liegen und daher das Gewebe hier am stärksten gestaucht werden kann. Darum krümmen sich die Blättchen nach der Unterseite und bilden zwischen den Blattnerven die großen Längsfalten, deren konkave Seiten auf der Blattunterseite liegen; es macht das Blatt quer zu seiner Fläche eine Bewegung, die etwa an das Zusammenlegen eines Fächers erinnert.

Breslau, Pflanzenphysiologisches Institut, November 1911.

Literaturverzeichnis.

Baumert, K., Experimentelle Untersuchungen über Lichtschutzeinrichtungen an grünen Blättern. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. IX. Zweites Heft. 1907.

Borzi, A., Xerotropismo nelli felci. Nuov. Giorn. Bot. Bd. XX. 1888.

Christ, H., Die Farnkräuter der Erde. Jena 1897.

Derselbe. Die Geographie der Farne. Jena 1910.

Engler-Prantl, Pflanzenfamilien I. Abt. IV.

Goebel, K., Pflanzenbiologische Schilderungen I und II. Marburg 1889.

Hegi, Die illustrierte Flora von Mitteleuropa. München.

Kramer, A., Die anatom. Anpassung der Farnkräuter an Klima und Standort. Diss. Berlin 1907.

Lürssen, Ch., Die Farnpflanzen oder Gefäßkryptogamen. Rabenhorsts Kryptogamenflora. III. Leipzig 1889.

Milde, Über Pteris radiata. Botan. Zeitung Bd. XXIV. 1866.

Saporta, G. de, Notize sur l'Asplenium Petrarchae. Bull. Soc. Bot. France. Bd. XIV. 1867.

Schimper, A. W. F., Pflanzengeographie. Jena 1898.

Derselbe. Die epiphytische Pflanzenvegetation Amerikas. Botan. Mitteil. a. d. Tropen, II.

Steinbrink, Über Schrumpfungs- und Kohäsionsmechanismen von Pflanzen. Biolog. Zentralblatt Bd. XXVI. 1906.

Derselbe. Über die Ursache der Krümmungen einiger lebender Achsenorgane infolge von Wasserverlust. Berichte d. deutsch. Botan. Ges. 29. Jahrgang. Heft 6.

Zimmermann, Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892.

Tafelerklärung.

Tafel III.

Fig. 1. Ceterach officinarum. Schuppen auf der Blattunterseite.

Fig. 2. Asplenium trichomanes. Schnitt durch das Blattgelenk.

Fig. 3. Actiniopteris radiata. a) im Trockenzustand, b) ausgebreitet.

Fig. 4. A. radiata. Das Sklerenchym im Längsschnitt mit den Spiralbändern.

Fig. 5. Modell der Epidermis. a) mit Fettpapier (Cuticula) und gekrümmt, b) Zellen von gleichen Maßen ohne Fettpapier zum Vergleich.

Fig. 6. Nothochlaena nivea. Einzelne Fiederchen der stark xeromorphen Form (a) und der gewöhnlichen Form (b), links von der Unterseite, rechts von der Oberseite gesehen.

Fig. 7. Actiniopteris radiata. Im Sklerenchym zwei lufterfüllte Zellen; die Spiralbänder treten als dunkle Linien deutlich hervor.

Fig. 8. Actiniopteris radiata. Aufsicht des Blattes. In den Epidermiszellen die schräg gerichteten, abwechselnden hellen und dunklen Streifen.



Tafelerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1. Asplenium septentrionale. Teil eines Blattquerschnittes. Vergr. 178.

Fig. 2. Asplenium Petrarchae. Querschnitt durch den Blattrand Die dunklen punktierten Zellen enthalten Proteinkörnchen. Vergr. 178.

Fig. 3. Actiniopteris radiata. Schematischer Querschnitt durch Blatt und Stiel, a) im Trockenzustand, b) ausgebreitet. Die dunklen Teile bezeichnen das Sklerenchym, die karrierten die verholzten Gefäßbündel und das Stützgewebe des Stieles.

Fig. 4. A. radiata. Das Sklerenchym im Querschnitt. a) mit Wasser durchtränkt, b) ausgetrocknet. Vergr. 310.

Fig. 5. A. radiata. Querschnitt durch das Blatt. Vergr. 178.

Fig. 6. Nothochlaena Marantae. Spaltöffnungen. Vergr. 310.

Fig. 7. Nothochlaena Marantae. Sphäroidkristall in der Epidermis. Vergr. 800.

Fig. 8. Asplenium Petrarchae. Einzelnes Haar. Vergr. 233.

Fig. 9. Nothochlaena sinuata. Epidermiszellen mit Tüpfeln in den Seitenwänden. Vergr. 310.

Fig. 10. Nothochlaena nivea. Spaltöffnungen im Querschnitt. Vergr. 310.

Fig. 11. Asplenium septentrionale. Spaltöffnung. Vergr. 310.

Fig. 12. Asplenium trichomanes. Spaltöffnung. Vergr. 533.



Studien über den Vorgang der Plasmolyse.

Von **Karl Hecht.**

(Mit Tafel V und VI.)

A. Die herrschende Auffassung von den plasmolytischen Erscheinungen.

Bei der Einwirkung wasserentziehender Lösungen auf Pflanzenzellen, die mit einer Membran versehen sind, trennt sich bei einer gewissen Konzentration der Außenflüssigkeit der Plasmakörper von der Zellwand. Pringsheim (1854), Nägeli (1855) und Hofmeister (1867) haben bereits diesen Vorgang verfolgt und eingehend beschrieben. Nach dem Vorschlage von de Vries (Leipzig 1877, S. 10) bezeichnet man die Ablösung des Protoplasmas von der Zellwand als Plasmolyse.

Will man sich an der Hand wissenschaftlicher Lehrbücher einen Einblick in die heute herrschende Ansicht über den plasmolytischen Vorgang verschaffen, so findet man ganz allgemein die von de Vries (Leipzig 1877) begründete Auffassung vertreten. Fast alle Autoren — Sachs (1887, S. 580), Hansen (1890, S. 287—289), Frank (1892, S. 299), Giesenhagen (1894, S. 176), Hertwig (1906, S. 68—69), Jost (1908, S. 18—19) – reproduzieren die von diesem Forscher in seiner Abhandlung „Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung" (S. 35) und in seinem „Leerboek der Plantenkunde" (S. 149) gegebene bildliche Darstellung der einzelnen Stadien des plasmolytischen Verlaufes. Auch das „Lehrbuch der Botanik für Hochschulen" (1911, S. 159) hat in seine letzten Auflagen diese Abbildungen aufgenommen. Gleichzeitig bringt es in Anlehnung an de Vries eine Schilderung des plasmolytischen Prozesses, die sich im wesentlichen mit den Ausführungen der obengenannten Autoren deckt. Es heißt dort (S. 159): „. . . . Das läßt sich am einfachsten ausführen, wenn man die Zelle statt in Wasser in Lösungen bringt. Der Einfachheit wegen setzen wir voraus, daß der gleiche Stoff in dieser Lösung enthalten sei wie in dem Saftraum der Zelle; dann herrscht bei gleicher Konzentration beider Lösungen auch gleicher Druck innerhalb und außerhalb der Zelle, und die Spannung der Zellhaut hat aufgehört. Wird aber der Außendruck vermehrt, so verkleinert er den Saftraum so lange, bis innerhalb und außerhalb gleiche Konzentration herrscht. Das Protoplasma folgt dem sich verkleinernden Saftraum, die Zellhaut kann das nicht, und so

kommt es zur Abhebung des Protoplasmas von der Zellhaut, zur sogenannten Plasmolyse (Fig. 175). Bei ihrem ersten Beginn findet sie in den Ecken der Zelle statt, späterhin löst sich das Plasma ganz von der Wand los und liegt frei im Zellinnern als Kugel oder Ellipsoid."

Es sei gestattet, die de Vriesschen Abbildungen (Leipzig 1877, S. 35), auf denen diese Darstellung fußt, hier wiederzugeben, da diese für die vorliegende Arbeit von Wichtigkeit sind.

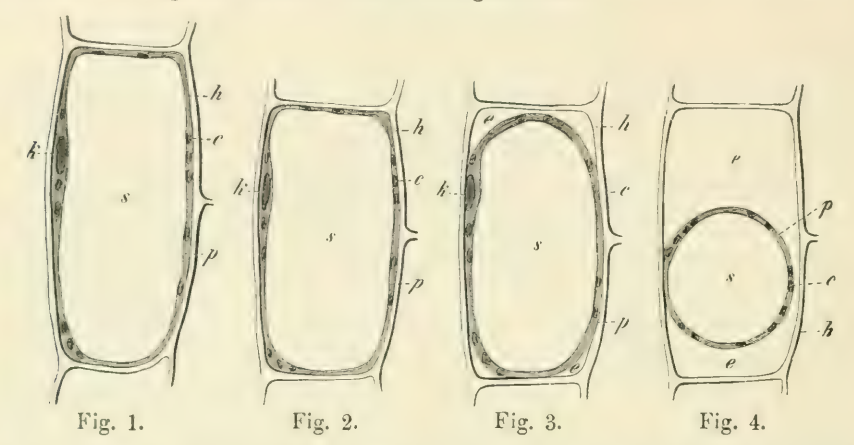


Fig. 1. Junge, erst halbwegs erwachsene Zelle aus dem Rindenparenchym des Blütenstiels von Cephalaria leucantha. Fig. 2. Dieselbe Zelle in 4prozentiger Salpeterlösung. Fig. 3. Dieselbe Zelle in 6prozentiger Lösung. Fig. 4. Dieselbe Zelle in 10prozentiger Lösung. Fig. 1 und 4 nach der Natur, Fig. 2 und 3 schematisch. Alle im optischen Längsschnitt. h Zellhaut; p protoplasmatischer Wandbeleg; k Zellkern; c Chlorophyllkörner; s Zellsaft; e eingedrungene Salzlösung.

Die Abbildungen, welche Pfeffer in seiner Pflanzenphysiologie (1897, Bd. I, S. 116) als Erläuterung der Erscheinungen des plasmolytischen Prozesses bringt, beziehen sich zwar auf Wurzelzellen von Zea Mays, doch sind sie im übrigen den von de Vries gegebenen analog.

Die wissenschaftliche Bedeutung der plasmolytischen Methode besteht darin, daß sie die Möglichkeit bietet, den in Pflanzenzellen herrschenden Druck durch Vergleich zu messen. Bei der Erklärung der hierbei sich abspielenden osmotischen Vorgänge nimmt man allgemein an, daß „nicht das Gesamtplasma, sondern nur die äußerste Hautschicht für Aufnahme oder Nichtaufnahme eines Stoffes maßgebend" ist. „Auch der Übertritt der Stoffe in den Zellsaft wird durch eine Plasmahaut (Vakuolenwand) reguliert." („Lehrbuch der Botanik für Hochschulen" 1911, S. 160.) Bahnbrechend sind in dieser Richtung die Arbeiten von de Vries und Pfeffer gewesen.

Besonders Pfeffer hat die Frage nach der Schicht, welche für die diosmotischen Vorgänge verantwortlich zu machen ist, eingehend behandelt. Von ihm ist in seinen „Osmotischen Untersuchungen" (1877) die Forderung aufgestellt worden, daß „der lebende Protoplasmakörper

allseitig, gegen Zellhaut und Zellsaft hin, von einer wirklichen, im nicht wachstumsfähigen Zustand widerstandsfähigen Membran umgeben ist . . . .". (a. a. O. S. 139.) In seiner Arbeit „Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen" (1886, S. 315) spricht Pfeffer diese Hautschicht (Plasmahaut, Plasmamembran, Hyaloplasmahäutchen) als ein Organ des Protoplasmas an, welches den lebenstätigen Organismus, aber auch leblose Plasmamassen (z. B. isolierte Vakuolen) gegen ein anderes Medium, also auch gegen den Zellsaft und gegen die Zellwand, abgrenzt, und das vermöge seiner Situation auch den Stoffaustausch mit der Außenwelt zu vermitteln hat. „In dieser Tätigkeit steht es zu dem lebenstätigen Ganzen als ein selbst lebendiger Teil in dem gekennzeichneten abhängigen und dienstlichen Verhältnis . . ." Die gleichen Angaben finden sich in Pfeffers Abhandlung „Zur Kenntnis der Plasmahaut und der Vakuolen" (1890). Es heißt dort (S. 235): „In jedem Falle ist und bleibt die in allem Wechsel sich erhaltende Plasmahaut, wie ich das schon in früheren Arbeiten hervorhob, ein selbst lebendiges Organ des lebenden Protoplasten, welches im Dienste und in Wechselwirkung mit dem Ganzen zu funktionieren hat." Eine der Hauptaufgaben, welche Pfeffer seiner Hautschicht zuschreibt, besteht in ihrer entscheidenden Wirksamkeit bei den diosmotischen Vorgängen. „Es ist klar, daß schon die Grenzschichten des Protoplasten, also Hautschicht und Vakuolenhaut, darüber entscheiden, ob ein gelöster Körper seinen Weg ins Innere findet, und ebenso kommen in alleiniger Berührung mit diesem Grenzwall die osmotischen Leistungen der nicht eindringenden Stoffe zu Wege." (1890, S. 238.) Somit wird der Grenzschicht des Protoplasmas eine ganz besondere Bedeutung beigelegt. „. . . Die osmotischen Leistungen eines nicht eindringenden Körpers werden in jedem Falle von der Außenschicht des Protoplasmas abhängen, da die Ursache der osmotischen Leistungen durch Molekularkräfte bedingt ist, welche nur auf eine minimale Entfernung wirken." (1886, S. 315.)

Diese Hautschicht soll möglicherweise aus einer Verdichtung des Protoplasmas hervorgehen. Infolge ihrer Wachstumsfähigkeit folgt die Hautschicht einer mechanischen Dehnung wie ein zähflüssiger Körper. Das Protoplasma vermag die Substanz der Hautschicht sowohl zu bilden, wie auch zu lösen. „Die Beachtung dieses Vorganges ist unerläßlich, wenn es sich um Deutung der bekannten Erscheinungen handelt, welche bei Kontraktion von Protoplasmakörpern durch wasserentziehende Mittel beobachtet werden. Kontrahierte Protoplasmakörper zeigen bekanntlich, auch wenn die Volumenabnahme sehr ansehnlich war, doch keine gefaltete Oberfläche, und dieser Umstand würde ein schlagender Beweis gegen die Existenz einer resistenten und nur wenig elastisch gedehnten Membran sein, wenn nicht das-

selbe Phänomen, infolge der auflösenden Wirkung des Protoplasmas, bei Vorhandensein einer dünnen Niederschlagsmembran herbeigeführt werden könnte.“ (1877, S. 143.) Die Fähigkeit der Plasmahaut, allen Ausgestaltungen des Protoplasten gleichsam wie eine zähflüssige Masse zu folgen, steht nach Pfeffer im Zusammenhange mit der leichten gegenseitigen Verschiebbarkeit der jeweils aufbauenden Teile und der Fähigkeit des Cytoplasmas, da, wo es Flächenvergrößerung erfordert, neues Baumaterial einzuschieben, aber auch solches bei Abnahme der Oberfläche wieder in sich aufzunehmen. Ein solcher Wechsel wird damit angezeigt, daß bei weitgehendster Vergrößerung oder Verkleinerung der Oberfläche die Plasmahaut anscheinend die gleiche Dicke bewahrt. Von dem übrigen Plasma unterscheidet sich die Hautschicht dadurch, daß sie bei längerer Plasmolyse „zunächst ihre Kontinuität und ihre wesentlichen diosmotischen Eigenschaften bewahrt“.

Der zurzeit herrschenden Auffassung von dem plasmolytischen Prozesse, die — wie bereits hervorgehoben wurde — auf de Vries und Pfeffers Arbeiten beruht, stehen jedoch ältere Beobachtungen gegenüber. Da eine ganze Reihe dieser Mitteilungen sich auf genau durchgeführte Untersuchungen gründet, erscheint es geboten, vorerst einen historischen Überblick über die Wandlungen, denen die Darstellung der bei der Plasmolyse sich abspielenden Vorgänge im Laufe der Zeit unterworfen gewesen ist, hier folgen zu lassen.

B. Kurze Darstellung des historischen Entwicklungsganges.

Eine der ältesten und zugleich eingehendsten Schilderungen der Erscheinungen, die uns bei der Plasmolyse entgegentreten, liegt zweifellos in der Arbeit von Pringsheim (1854) vor. — Die Art und Weise, wie die Zellen von Mohl bei seinen Untersuchungen behandelt worden waren, ist nach Pringsheim für den Irrtum, die Begrenzung des zusammengezogenen Zellinhaltes für eine Membran zu halten, verantwortlich zu machen. „Die Entstehung der Erscheinung wurde nämlich durch die starken, angewandten Reagentien zu sehr beschleunigt, und hierbei die Art und Weise übersehen, in welcher die Plasmaschicht sich allmählich von der Zellwand ablöst; kurz, man hat die Erscheinung beurteilt, wie sie rasch hervorgerufen als vollendeter Zustand erscheint, während die Beobachtung, wie die Hautschicht sich nach und nach von der Zellwand ablösend zu jenem ringsherum abgeschlossenen Gebilde wird, das als Primordialschlauch angesehen wurde, sogleich die falsche Deutung hätte zerstören müssen.“ Läßt man „sehr verdünnte Säuren“ oder eine „sehr verdünnte Lösung von Zuckerwasser oder Kochsalz“ auf das Untersuchungsmaterial einwirken, so erhält man als schließliches Endprodukt den vermeintlichen Primordialschlauch Mohls gerade ebenso gut, als

wenn man die Zellen mit starken Säuren behandelt und so die Erscheinung rasch hervorgerufen hätte. Ein derartiges langsames Verfahren bietet jedoch den großen Vorteil, das Endstadium unter den Augen des Beobachters entstehen zu sehen. „Nach und nach zieht sich die äußerste Plasmaschicht von der Zellwand zurück, aber die Scheidung erfolgt nicht wie die Trennung zweier Membranen mit glatter Begrenzung, sondern wie die Loslösung einer klebrigen Substanz von einer Haut, an der sie bisher adhärierte. Hier und da bleibt das Plasma an der Zellwand kleben, während es an anderen Stellen sich schon losgelöst hat; bald erscheint das von der Zellwand meist losgelöste, zusammenfallende Plasma nur noch durch einzelne Plasmafäden mit der Zellwand verbunden. Auch diese Fäden werden immer dünner, ziehen sich endlich entweder unter mannigfaltiger Gestaltänderung ganz von der Zellwand ab, und vereinigen sich zusammenfließend mit dem übrigen bereits losgelösten Plasma in eine gleichmäßige Schicht, oder reißen auch wohl ab, wodurch einzelne Plasmateilchen auch nach vollständiger Ablösung des sogenannten Primordialschlauches noch an der Zellwand klebend gefunden werden; bis endlich nach vollständiger Ablösung oder Abreißung sämtlicher noch vorhandener Verbindungsfäden zwischen der Zellwand und dem zusammengezogenen Inhalte die äußerste Schicht des Plasmas zu einer zusammenhängenden Lage an der äußeren Umgrenzung des übrigen Inhaltes zusammengeflossen ist, und hierdurch der Anschein, als sei der Inhalt von einer Membran umgeben, entsteht.“ Pringsheim kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse: „Daß die zusammenfließende Schicht sich von der Wand bald langsamer, bald schneller ablöst; daß die zusammengeflossene Schicht bald einer lockeren, bald einer festeren Membran gleicht, das hängt so sehr von den verschiedenen Kohäsions- und Anhäufungs-Verhältnissen der Schicht selbst, und zugleich von der Beschaffenheit der angewendeten Reagentien ab, daß es nicht möglich ist, etwas allgemein Gültiges hierüber anzugeben. Nur dies steht unter allen Bedingungen fest, daß die Beobachtung der langsamen Ablösung fast in jedem einzelnen Falle gestatten wird, sich davon zu überzeugen, daß die innere Auskleidung der Zellstoffwand von einer Schicht einer schleimig-klebrigen zähflüssigen Substanz, aber nicht von einer Membran gebildet wird.“ — Die Tafeln, welche der Autor seiner Arbeit beigegeben hat, liefern einen vortrefflichen Beleg für die soeben geschilderten Verhältnisse. Im besonderen sei hier auf Tafel III, 16—21 hingewiesen. — Im Verlaufe seiner Untersuchungen hat Pringsheim bei Plasmolyse auch Plasmafäden beobachtet und abgebildet (Tafel III, 19; Cladophora glomerata), die nach frei an das Außenmedium grenzenden Zellwänden verliefen.

Nach Pringsheim beschäftigte sich Nägeli in seinen Pflanzenphysiologischen Untersuchungen (1855, S. 2 u. f.) mit den plasmolytischen Kontraktionserscheinungen. Auch er stellte fest, daß unter Einwirkung von Zuckerlösung „der Schlauch“ sich nicht immer überall gleichzeitig von der Membran loslöst, sondern daß er sich oft an einzelnen Stellen abtrennt, während er an den übrigen noch längere oder kürzere Zeit mit der Zellwand in Verbindung bleibt. „Sehr häufig sind es kleine punktförmige Stellen, welche an der Membran kleben bleiben; der Schlauch zieht sich daselbst in lange Fäden aus. Wenn diese Fäden eine gewisse Dünnheit erlangt haben, so reißen sie ab und fließen mit dem Schlauch zusammen. Häufig bleibt ein Teil derselben als ein sichtbares Knötchen von Schleim an der Membran zurück.“ Aus diesen Tatsachen folgert Nägeli, daß die Adhäsion des Schlauches an der Membran nicht in allen Zellen und in der nämlichen Zelle nicht an allen Stellen die gleiche ist. Auch scheinen nach ihm bezüglich der Loslösung des Schlauches von der Zellwand Unterschiede zu bestehen zwischen jungen und alten Zellen, solchen mit dichten wasserärmeren und solchen mit gallertartigen wasserreichen Membranen. Ferner weisen die einzelnen Pflanzengruppen Verschiedenheiten in ihrem Verhalten gegen Plasmolytika auf. Hervorzuheben ist noch, daß der Schlauch, der sich in physikalischer Hinsicht wie ein zäher halbflüssiger, äußerst dehnbarer, dabei aber vollkommen unelastischer Schleim verhält, in der Regel den Poren inniger anhängt, als den übrigen Stellen der Membran. „Eine häufige Erscheinung ist die, daß in langgestreckten zylindrischen Zellen von fadenförmigen Algen die Schläuche sich zuerst an der Seitenfläche ablösen, und noch eine Zeitlang mit den Endflächen verbunden bleiben . . . Wenn man Zuckerlösung einwirken läßt, so trennt sich der Schlauch von der ganzen Seitenwandung ab und bleibt an den Endflächen hängen. Später trennt er sich häufig auch hier los.“ — Ob die Erscheinung, wie sie in der Nägelischen Tafel III, 5 zutage tritt, nämlich daß die Fäden zweier benachbarter Zellen miteinander korrespondieren, eine zufällige oder eine konstante ist, blieb Nägeli selbst zweifelhaft. Erwähnt sei schließlich, daß auch von diesem Forscher Plasmafäden, die an freien Zellwänden endigten, beobachtet worden sind. Es geht das klar aus seiner Tafel IV, 2 hervor. Dieses Bild veranschaulicht eine in Zuckerlösung plasmolysierte Scheitelzelle von Cladophora glomerata. „Der sich zusammenziehende Schlauch bleibt meistens mit 2—5 einfachen oder etwas ästigen Plasmafäden an der Decke hängen.“

Hofmeister (1867, S. 13 u. f.) gibt in seiner „Lehre von der Pflanzenzelle“ folgende Darstellung des plasmolytischen Vorganges: „Bei Zusatz langsam wirkender Lösungen, z. B. einer verdünnten Zuckerlösung, zu dem Wasser, in welchem lebendige größere Zellen, etwa von

Fadenalgen . . . sich befinden, löset sich zunächst die oberflächliche Schicht des sich zusammenziehenden protoplasmatischen Inhaltes nur stellenweise von der Innenseite der Zellhaut; an anderen, größeren Stellen bleibt sie ihr anhaften, sodaß die kontrahierte Inhaltsmasse eine mehrfach ausgebuchtete Form erhält. Bei längerer Einwirkung der die Kontraktion hervorrufenden Ursache geht die unregelmäßige Form der zusammengezogenen protoplasmatischen Inhaltsmasse durch allmähliche Einziehung und Abrundung ihrer Vorsprünge in die sphäroidische über, vorausgesetzt, daß die Stoffe der wasserentziehenden Lösung nicht allzurasch auf die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas einwirken." Langsame Einwirkung des Plasmotytikums bedingt den Rückzug des protoplasmatischen Inhaltes von der Zellwand an einer oder mehreren relativ kleinen runden Stellen, sodaß zwischen Zellhaut und Inhalt „linsenförmige, mit wäßriger Flüssigkeit erfüllte Räume" sich bilden. Auch Hofmeister betont, daß in langgestreckten Zellen (Tradescantia, Vallisneria, Fadenalgen) die Ablösung des Zellinhaltes an den langen Wänden früher als an den kurzen eintritt. „An den Endflächen bleibt der Zellinhalt, bei allen diesen Fadenalgen, zunächst in breiter Ausdehnung noch haften, von denen er erst bei weiterer Einwirkung der wasserentziehenden Lösung sich zurückzieht." (S. 15.) Hierbei adhärieren bisweilen kleine Stellen auch ferner an der Endfläche, sodaß bei der weiteren Kontraktion der Inhaltsmasse fädliche Fortsätze ausgezogen werden. Ein derartiges Anhaften kommt jedoch nur äußerst selten vor. — Von erheblichem Einflusse auf den plasmolytischen Verlauf sind die benutzten Lösungen. Indifferente Stoffe, z. B. Rohrzucker, lassen „bei vorsichtiger Anwendung in großer Verdünnung" die einzelnen Stadien deutlich in Erscheinung treten. Je konzentrierter dagegen eine plasmolysierend wirkende Lösung zur Verwendung gelangt, desto gleichmäßiger vollzieht sich die Ablösung des Inhaltes von der Zellwand.

In der Folgezeit ist in bezug auf die Erforschung des plasmolytischen Vorganges nichts Neues zu verzeichnen. Pfeffer erwähnt zwar in seinen „Osmotischen Untersuchungen" mit wenigen Worten „die unregelmäßige Gestaltung der Oberfläche, welche Protoplasmakörper, während sie sich kontrahieren, nicht selten zeigen" (S. 144), doch geht er nicht näher auf diese Verhältnisse ein.

Im Gegensatze zu Pringsheim, Nägeli und Hofmeister vertrat dann Tangl (1879—1881) die Ansicht, die Oberfläche der von der Membran abgelösten Hüllschicht des Protoplasmas erscheine stets glatt. Diese Auffassung hinderte ihn jedoch nicht, unter normalen Quellungsverhältnissen einen Zusammenhang der in den Verbindungskanälen benachbarter Zellen befindlichen Fäden mit der hautartig ausgekleideten Oberfläche des Protoplasmas zu fordern. Denn es

wäre nach Tangl ja sehr wohl möglich, daß die Adhäsion zwischen den die Zellhaut durchziehenden Fäden und den Wänden der Verbindungskanäle stärker sei, als diejenige zwischen den Fäden und der Insertionsstelle dieser an der Oberfläche des Protoplasmas. Hierdurch würde sich ohne Schwierigkeiten das Abreißen der Fäden an den Insertionsstellen bei Ablösung der Hüllschicht von der Innenfläche der Membran erklären lassen.

Ausgehend von der herrschenden Ansicht, daß die Oberfläche des Plasmasackes nach der Kontraktion gleichmäßig glatt sei, gelang es Bower (1883) zu zeigen, daß der Plasmakörper bei der Plasmolyse ganz allgemein durch Fäden mit der Zellwand im Zusammenhange bleibt. Bower stellte fest, daß die zahlreichen Fäden, die er bei der Kontraktion zwischen Plasma und Membran zu Gesicht bekam, nicht durch das Vorhandensein von Tüpfeln in der Zellmembran bedingt seien. Ja er ging sogar so weit, eine Beziehung zwischen Fadenbildung und Verbindung benachbarter Plasmakörper in Abrede zu stellen. Zu dieser Auffassung wurde er geführt einmal durch den Umstand, daß die Fäden benachbarter Zellen nicht miteinander korrespondierten, und andererseits durch die Erscheinung, daß die freien Zellwände bei Plasmolyse ebenso reichlich mit dem Plasmakörper durch Fäden verbunden bleiben, wie die Grenzwände benachbarter Zellen. Er versuchte daher die Fadenbildung durch die Annahme einer festen, überall gleichartigen, innigen Verwachsung des Plasmakörpers mit der Zellmembran zu erklären.

Die gleichzeitig mit den Untersuchungen Bowers erschienenen Arbeiten Gardiners (1884) berichtigen die von diesem Forscher bis dahin vertretene Ansicht insofern, als in ihnen hervorgehoben wird, daß aus den bei sich kontrahierenden Protoplasten auftretenden Fäden noch keine Schlüsse auf das Vorhandensein oder Fehlen von Plasmaverbindungen gezogen werden dürften. Die Erscheinung sei vielmehr durch die Adhäsion des Plasmakörpers an der Zellwand bedingt. Gardiner stützte sich hierbei auf seine Forschungsergebnisse, die mit denen Bowers übereinstimmten.

In die Zeit der Veröffentlichung der Arbeiten der beiden letztgenannten Autoren fallen ferner Goroschankins Studien „Zur Kenntnis der Korpuskula bei den Gymnospermen“. Er beobachtete nach Einwirkung von Alkohol auf das Untersuchungsmaterial an den Protoplasten kaum wahrzunehmende unregelmäßige Ausläufer. Das Protoplasma des Korpuskulums erschien vollauf mit Ausläufern bedeckt. Aus den Ausführungen Goroschankins ist ersichtlich, daß ihm nur Plasmafäden aufgestoßen sind, die mit Tüpfelkanälen in Zusammenhang standen; zum mindesten hat er die Fäden ausschließlich zu den Tüpfeln in Beziehung gebracht.

Das gleiche tat Hillhouse (1883), welcher fand, daß „die zentrale protoplasmatische Masse“ von Zellen aus dem äußeren Parenchym von Prunus Laurocerasus nach Behandlung mit Schwefelsäure und Ammoniak-Carmin sternförmig von einer großen Anzahl von strahligen Protoplasmafäden umgeben ist. Jeder dieser Fäden füllte die erweiterte Basis eines Tüpfels.

H. de Vries bringt in seinen „Plasmolytischen Studien über die Wand der Vakuolen“ (1885, S. 471) folgende kurze Mitteilung: (Spirogyra nitida) „Bei langsamer Einwirkung erfolgt eine normale Plasmolyse. Es hebt sich das Protoplasma anfänglich an den Ecken, dann von den Endflächen, später auch von den Seitenwänden ab, indem es sich immer mehr der Kugelform nähert, diese aber nur in den kleineren Zellen wirklich erreicht. Zahlreiche äußerst feine Fäden verbinden wenigstens anfänglich die Hautschicht mit der Zellhaut. Die Chlorophyllbänder sind einander näher gerückt und dadurch häufig mehr oder weniger undeutlich geworden.“ Nägeli und Hofmeister hatten dagegen bereits festgestellt, daß die Trennung des Plasmaleibes von der Zellwand zunächst an den Längswänden (Seitenwänden) vor sich geht, während die Querwände (Endflächen) häufig noch längere Zeit innig mit dem Plasma verbunden bleiben.

Aus den de Vriesschen Tafeln ist leicht zu ersehen, daß diesem Forscher an den verschiedensten Objekten (Spirogyra XXI, 1; Vallisneria XXII, 1; Tradescantia XXII, 6; Agave XXII, 7; Allium Cepa XXII, 11) durch Plasmolyse hervorgerufene Plasmafäden zu Gesicht gekommen sind. Dieser Erscheinung wird jedoch keine weitere Bedeutung beigelegt. De Vries bezeichnet vielmehr als normale Plasmolyse auch eine ganze Reihe von Fällen, die nichts von Plasmafäden erkennen lassen (XXII, 3, 10; XXIII, 1, A; XXIV, 2, 7 A u. B).

Klebs (1886—1888) beobachtete an Zygnema-Zellen bei Plasmolyse mit Zuckerlösung sehr zahlreiche zarte „Pseudopodien“, welche bis zur Zellwand gingen. „Schon nach 24 Stunden sind sie verschwunden, augenscheinlich eingezogen, weil keine Spur von Plasmateilchen oder Körnchen sich später vorfindet; bisweilen allerdings können die Pseudopodien sich mehrere Tage erhalten.“ (a. a. O., S. 527.)

Den Ursprung der Plasmafäden, welche bei lokaler Adhäsion an die Zellwand bei plasmolytischer Kontraktion ausgezogen werden, verlegt Pfeffer (1890, S. 269) in die Hautschicht. Diese vermag ihre Oberfläche wie eine zähflüssige Masse, nötigenfalls unter Beteiligung des Cytoplasmas, zu vergrößern oder zu verkleinern.

Bower und Gardiner hatten gezeigt, daß sich Plasmafäden und Tüpfel durchaus nicht gegenseitig bedingen, daß vielmehr Plasmafäden reichlich auch überall da auftreten, wo von Tüpfeln gar keine Rede

sein kann (freie Außenwände der Zellen). Zudem ist nach Gardiner die Zahl der Plasmafäden viel zu groß, als daß nur Tüpfel als Haftstellen in Betracht kommen könnten. Demgegenüber betonte Kohl (1891), daß die Plasmafäden einzig und allein nach den Stellen hin laufen, an denen die Zellmembran von Plasma durchsetzt ist. Niemals sah er Fäden nach den an das umgebende Wasser grenzenden Zellwänden eines Spirogyra-Fadens sich erstrecken. Er behauptet, daß „der zylindrische Teil der Zellmembran immer frei von solchen Fäden bleibt, während die den Nachbarzellen anliegenden Membranpartien mehr oder weniger dicht mit Fäden besetzt sind". (S. 15.) Auch die Korrespondenz der Plasmafäden an den beiden Seiten einer Querwand führt er als Argument für die von ihm vertretene Auffassung an.

Hansteen (1892) beobachtete, daß unter Einwirkung von Alkohol auf Fucoideen-Zellen der protoplasmatische Inhalt, obwohl von den Längswänden kontrahiert, doch dicht an den Querwänden haftet. Auf Grund dieser Erscheinung forderte er, daß die „Poren" der Wände von feinen Plasmafäden durchzogen werden.

Desgleichen laufen die von Jönsson (1892) für Psoralea bituminosa geschilderten Plasmabänder einzeln jedes für sich zu Poren in der Membran. Auch Jönsson vertrat die Ansicht der Korrespondenz der Plasmastränge zweier benachbarter Zellen.

Poirault (1893, S. 212) bringt bei der Besprechung der Plasmaverbindungen zwischen benachbarten Zellen eine treffliche Abbildung der Erscheinungen, wie sie an Marattia Brongniartii unter dem Einflusse plasmolytisch wirkender Agentien zutage treten, ohne jedoch dabei auf den eigentlichen plasmolytischen Vorgang einzugehen.

Chodat und Boubier (1898) stellten plasmolytische Untersuchungen an Pflanzenzellen der verschiedensten Verwandtschaftsgruppen an. Von neuem hoben sie hervor, daß bei Plasmolyse sich das Protoplasma nicht vollständig von der Membran abhebt, sondern daß es eine Zeitlang durch mehr oder weniger zahlreiche Fäden mit derselben verbunden bleibt. Es besteht hierbei keinerlei Unterschied zwischen Zellen, die isoliert oder zu Fäden oder Geweben vereint sind. Die Bildung der Fäden kann nach Ansicht der beiden Autoren entweder darauf beruhen, daß das Ektoplasma eine visköse Beschaffenheit hat und so an der Membran adhäriert — diese Adhärenz würde durch die Plasmolyse teilweise unterbrochen werden — oder auch darauf, daß das Ektoplasma in seiner Grenzlamelle unmerklich in die Membran übergeht.

In seiner Abhandlung „Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen" beschäftigt sich Strasburger (1901) mit den plasmolytischen Erscheinungen. Er hebt hervor, daß sich bei Anwendung von Kalisalpeterlösung die Fadenbildung erst mit steigender Konzentration ein-

stellt. Bei Blättern von Mnium affine vollzog sich unter Einwirkung von 5—7 prozentiger Salpeterlösung der Rücktritt der Protoplasten von den Wandungen erst nach geraumer Zeit mit glatten Umrissen, während 12 prozentige Lösung raschen Rücktritt mit schönster Fadenbildung zur Folge hatte. „Wo Fäden bei der Plasmolyse ausgesponnen werden, ziehen sie sich weiterhin auf die Protoplasten zurück, können aber auch durchrissen werden und mit ihrem äußeren Teile sich auf die Zellwand zurückziehen, um dort größere oder kleinere Schleimtröpfchen zu bilden.“ (S. 565.) Der Umstand, daß bei den Prothallien Plasmafäden auch nach den freien Außenwänden gehen, macht die Ansicht, daß Fäden nur nach Plasmodesmen führen können, hinfällig.

Chodat und Boubier hatten aus der Fadenbildung auf eine klebrige Beschaffenheit der Hautschicht geschlossen. Strasburger macht demgegenüber geltend, daß sich diese Eigenschaft häufig erst bei Anwendung stärker plasmolysierender Lösungen kundgibt und somit deren Wirkung zugeschrieben werden könne. „Mit schwächeren Lösungen lassen sich, wie wir sehen, in dem gleichen Falle oft glatte Ablösungen erlangen. Also könnte Wasserentziehung die Viskosität der Hautschicht bedingen, beziehungsweise das stärkere Anhaften dieser Hautschicht an der Zellwand veranlassen.“ (S. 566.) — An dem Aufbau der Plasmafäden kann die Hautschicht unmöglich allein beteiligt sein. Es nimmt vielmehr die Grundsubstanz des sogenannten Körnerplasmas an der Fadenbildung teil. Denn einmal sind die Fäden nicht selten merklich dicker, ja mitunter viel dicker als die Hautschicht, sodaß diese allein die Fäden in solcher Dicke nicht erzeugen könnte; andererseits schließt ein solcher Faden unter Umständen körnige Bildungen ein. Bei Mnium konnte Strasburger feststellen, daß selbst einzelne Chlorophyllkörner in den Faden geraten, eventuell auch an der Zellwandung zurückbleiben, während sich ein feiner Faden zwischen der sie umschließenden und der zurückweichenden Plasmamasse bildet. Weit häufiger haften merkliche Plasmapartien, die nur kleine Körnchen führen, an der Wandung. Ein zarter Faden führt von derartigen Plasmaresten, die vorwiegend den Tüpfeln aufsitzen, nach dem kontrahierten Protoplasten. Die genaue Prüfung bezüglich der Haftstellen der Plasmafäden an der Zellwand führte zu dem Ergebnisse, daß die „bei der Plasmolyse ausgesponnenen Plasmafäden z. T. an beliebigen Stellen der Wandung, z. T. an die Plasmodesmen ansetzen. Die von den Tüpfeln ausgehenden zeichnen sich vielfach durch größere Dicke aus.“ (S. 567.) Auch sind die mit den Plasmodesmen in Verbindung stehenden Fäden dauerhafter als die anderen. Bei anhaltender Plasmolyse werden die Plasmodesmen fast stets aus der Membran herausgezogen, ein Durchreißen findet seltener statt.

Auf Grund der soeben gegebenen historischen Übersicht über die Wandlungen, denen die Darstellung und Auffassung des plasmolytischen Prozesses in den letzten 60 Jahren unterworfen gewesen ist, muß man sich zweifellos die Frage vorlegen: Welche Ursachen haben den Ausschlag für diesen Wechsel gegeben? Tatsache ist, daß die zurzeit herrschende Ansicht über den plasmolytischen Verlauf von den Mitteilungen der älteren — Pringsheim, Nägeli, Hofmeister — und der meisten neueren Autoren abweicht. War schon durch die Beobachtungen der älteren Autoren gezeigt worden, daß sich unter dem langsamen Einflusse plasmolysierend wirkender Agentien der Plasmaleib in durchaus unregelmäßiger Weise unter Ausbildung von Plasmafäden zwischen Membran und sich kontrahierendem Zelleibe allmählich von der Zellwand loslöst, so müssen demgegenüber die bildlichen und schriftlichen Darstellungen der heute gebräuchlichen wissenschaftlichen Lehrbücher die Vorstellung erwecken, als vollziehe sich bei Plasmolyse die Kontraktion des Protoplasten in glattester Form. Besonders auffallend ist es, daß man in neuerer Zeit der seit langem bekannten Erscheinung der Fadenbildung in den Fällen, wo eine solche überhaupt beobachtet worden ist, so wenig Bedeutung beigelegt hat.

Die älteren Autoren hatten ihre Aufmerksamkeit der Hauptsache nach auf die allerersten Stadien der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen gerichtet. Dieser Umstand machte eine langsame Plasmolyse und gleichzeitige Beobachtung des Untersuchungsmaterials unter dem Mikroskope erforderlich. Bei den neueren Autoren findet man nun — soweit diesbezügliche genauere Angaben vorliegen —, daß das Material erst der Beobachtung unterzogen wurde, nachdem es längere Zeit der Einwirkung des plasmolysierenden Agens ausgesetzt gewesen war. So hat Küster (1909 u. 1910) erst 18—24 Stunden nach der Einwirkung des Plasmolytikums seine Objekte untersucht; erklärlicherweise mußten ihm dabei die ersten eigentlichen plasmolytischen Kontraktionserscheinungen entgehen. Doch auch in den Arbeiten von H. de Vries finden sich an den verschiedensten Stellen Zeitangaben, die eine Beobachtung der ersten plasmolytischen Kontraktionsvorgänge von vornherein ausschließen. Es sei hier beispielsweise auf die „Plasmolytischen Studien über die Wand der Vakuolen“ (1885) hingewiesen. Meist sind in dieser Arbeit die Beobachtungen $2^1/_2$ Stunde — häufig jedoch weit später — nach der ersten Einwirkung des Plasmolytikums angestellt worden. (S. u. a. „Tabelle über die Bestimmung der niedrigsten zur Plasmolyse erforderlichen Konzentration einer Salpeterlösung bei verschiedener Versuchsdauer“ S. 557.) In dem grundlegenden Werke desselben Autors „Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft“ findet sich auf S. 450 der Satz: „Die Dauer des Aufenthaltes in den Lösungen war in der Regel

zwei Stunden, wo nicht, so ist das bei den einzelnen Versuchen erwähnt." Auch hier ist diese Normalzeit von zwei Stunden oft beträchtlich überschritten.

Lag es wohl im Sinne der von den einzelnen Autoren jeweilig angestellten Untersuchungen, den ersten Beobachtungszeitpunkt oft weit hinauszuschieben, so darf man dabei nicht vergessen, daß dadurch die Möglichkeit, etwas Genaues über die ersten Kontraktionserscheinungen mit den daran sich anschließenden Phasen bis zur mehr oder weniger vollkommenen Abrundung der kontrahierten Protoplasten zu erfahren, stark beeinträchtigt werden mußte, sofern diese Möglichkeit nicht durch die angewandte Methode überhaupt in Frage gestellt wurde.

Der soeben hervorgehobene Unterschied in dem Beobachtungszeitpunkte gibt uns ein Erklärungsmoment für die Abweichungen zwischen den älteren und neueren Darstellungen. Denn, daß schon nach kurzer Zeit „die unregelmäßige Form der zusammengezogenen protoplasmatischen Inhaltsmasse durch allmähliche Einziehung und Abrundung ihrer Vorsprünge in die sphäroidische" (Hofmeister 1867, S. 14) übergeht, das war bereits von Pringsheim, Nägeli und Hofmeister nachdrücklich betont worden.

In den oben (S. 138) reproduzierten Abbildungen von H. de Vries, die sich — wie schon erwähnt — in den meisten neueren Lehrbüchern finden, tragen die Fig. 2 und 3 den ausdrücklichen Vermerk „schematisch". Dieser Vermerk „schematisch" fehlt den Lehrbüchern von Frank, Giesenhagen, Jost und dem „Lehrbuch der Botanik für Hochschulen" in der — ebenfalls auf de Vries zurückgehenden — Figurenerklärung. Sollte nicht in der einfachen Übernahme dieser bildlichen Darstellung ein weiterer Grund zu suchen sein für die gekennzeichneten Abweichungen? Sind es doch gerade die von de Vries schematisch gegebenen Figuren 2 und 3, welche für eine den tatsächlichen Verhältnissen entsprechende genaue Vorstellung des gesamten plasmolytischen Verlaufes von ausschlaggebender Bedeutung sein müßten.

Wenn sich auch die Abbildungen Pfeffers in seiner „Pflanzenphysiologie" nicht auf Cephalaria leucantha, sondern auf Wurzelzellen von Zea Mays beziehen, so geben doch auch hier wieder die Figuren b und c nur eine schematische Darstellung, sodaß man wohl zu der Annahme berechtigt ist, daß diese bildliche Darstellung in Anlehnung an das de Vriessche Schema verfertigt worden ist.

Bedingt durch die späte Untersuchung des Beobachtungsmaterials einerseits, sowie gefördert durch die von de Vries gegebene Darstellung andererseits, konnte sich bei der ausschließlichen Berücksichtigung des Endstadiums der plasmolytischen Kontraktions-

erscheinungen die Vorstellung mehr und mehr Geltung verschaffen, daß der Plasmakörper der Zellwand einfach angedrückt sei, ohne daß eine innigere Beziehung zwischen Plasma und Membran bestehe. Diese Anschauung hat durch die Arbeiten Pfeffers über die Beteiligung des Plasmas an den diosmotischen Vorgängen zweifellos eine wesentliche Stütze erhalten. Auf diese Arbeiten ist, soweit sie hier in Betracht kommen, bereits eingegangen worden.

Schließt man sich der Ansicht an, daß das Protoplasma der Zellwand lediglich durch den im Zellsaftraume herrschenden Druck angepreßt sei, so wird man aus rein physikalischen Gründen auch der Forderung zustimmen müssen, daß nach der Aufhebung dieses Innendruckes bei langsam beginnender Plasmolyse der Plasmakörper konvex gegen die Zellwand hin sich von dieser zurückziehen muß. Liegen langgestreckte Zellen vor, so wird naturgemäß immer die Abhebung, zunächst in den Ecken beginnend, von da auf die Schmalseiten und dann erst auf die Längswände übergehen müssen. Unter derartigen Verhältnissen ist höchstens ein Haftenbleiben des Plasmakörpers an den die Zellwand durchsetzenden Tüpfeln denkbar. Nach de Vries hebt sich denn auch das Plasma bei „normaler" Plasmolyse „anfänglich an den Ecken, dann von den Endflächen, später auch von den Seitenwänden" ab, indem es sich immer mehr der Kugelform nähert. Demgegenüber stehen die Forschungsergebnisse Nägelis und Hofmeisters, die beide in langgestreckten Zellen häufig eine Ablösung des Plasmakörpers zunächst an den Seitenflächen und dann erst an den Endflächen beobachteten.

Ganz abgesehen von weiteren wesentlichen Unterschieden in der Darstellung des Loslösungsvorganges bei den älteren und neueren Autoren ist wohl hier der Ort, noch auf eine andere Abweichung hinzuweisen. Vor allem von Pringsheim und Hofmeister war die Wichtigkeit der langsamen Anwendung verdünnter plasmolysierender Lösungen betont worden, um die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen in ihren einzelnen Stadien genau in die Erscheinung treten zu lassen. Bei Strasburger findet sich jedoch die Angabe, daß — speziell für Mnium affine — die Eigenschaft der Fadenbildung häufig erst bei Anwendung stärker plasmolysierender Lösungen zutage tritt, während sich durch schwächere Lösungen oft eine glatte Ablösung des Protoplasten von der Zellwand erzielen läßt.

C. Zweck und Ziel der vorliegenden Arbeit.

Die bisherigen Ausführungen haben gezeigt, daß ein unverkennbarer Unterschied in der Darstellung und Auffassung des plasmolytischen Vorganges bei den älteren und neueren Autoren besteht. Diese Tat-

sache, sowie der Umstand, daß die Arbeiten von Pringsheim, Nägeli und Hofmeister etwa 50 Jahre zurückliegen, ließen es nicht nutzlos erscheinen, die bisherigen Angaben über den plasmolytischen Prozeß einer genauen Nachprüfung zu unterziehen. Ein derartiges Bestreben mußte zunächst dahin gehen, die allerersten Vorgänge, welche sich unter dem Einflusse plasmolytisch wirkender Lösungen in Pflanzenzellen abspielen, ins Auge zu fassen. Sodann lag es nahe, einmal den Ursachen auf den Grund zu gehen, welche die Erscheinung der Fadenbildung bei Plasmolyse hervorrufen. Daß hierfür nicht allein Tüpfel und Plasmodesmen in Frage kommen, ist bereits von verschiedenen Autoren — Bower, Gardiner, Klebs, Chodat und Boubier, Strasburger — hervorgehoben und begründet worden. Die Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen wird demnach eine zweifache sein:

I. Genaue Beobachtung des plasmolytischen Vorganges unter besonderer Berücksichtigung des frühesten Stadiums.

II. Ermittelung der Ursachen, welche das Haftenbleiben der bei der Plasmolyse entstehenden Fäden an der Zellwand bedingen.

I. Der plasmolytische Vorgang unter besonderer Berücksichtigung des frühesten Stadiums.

1. Methodik.

a. Untersuchungsmethode.

Für die vorliegenden Untersuchungen stand mir das große Instituts-Mikroskop, Zeiss-Jena Nr. 52548, mit apochromatischen Linsen zur Verfügung. Als Beleuchtungsquelle kam im allgemeinen eine Auerlampe zur Verwendung, deren Licht eine mit reinem Wasser gefüllte Schusterkugel auf den Spiegel des Mikroskopes konzentrierte. In den Zellen des Untersuchungsmaterials wurde die Plasmolyse durch Anwendung verschiedenprozentiger molekularer Lösungen von Kalisalpeter oder Traubenzucker herbeigeführt. Anfangs wurden meist beide Agentien nebeneinander auf ihre Wirksamkeit geprüft. Da sich bezüglich ihrer Wirkung in den ersten Stadien der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen keine bemerkbaren Unterschiede herausstellten, bevorzugte ich bald den Traubenzucker. Es machte sich nämlich bei längerer Einwirkung der Salpeterlösungen doch der schädigende Einfluß dieses Salzes geltend. Freilich war bei der Verwendung von Traubenzuckerlösungen, besonders in den warmen Sommermonaten, eine häufige Neuherstellung der Lösungen erforderlich. Dieser kleine Übelstand bei Benutzung von Traubenzucker wurde jedoch gern in Kauf genommen mit Rücksicht auf die durch

dessen Unschädlichkeit gewährleistete größere Zuverlässigkeit der Beobachtungsresultate.

Es wäre gewiß von Interesse gewesen, bei jedem einzelnen Objekte, sowie bei jedem einzelnen Versuche die Konzentrationshöhe des Plasmolytikums anzugeben. Daß dies nur in beschränktem Maße und auch dann bloß annähernd geschehen konnte, dafür gibt die eingeschlagene Methode die nähere Erläuterung. Es sollte das Ziel des ersten Teiles dieser Untersuchungen sein, den plasmolytischen Vorgang speziell in seinen frühesten Stadien einer genauen Beobachtung zu unterziehen. Aus diesem Grunde war es nicht zulässig, das Untersuchungsmaterial auch nur kurze Zeit vor der Beobachtung der plasmolysierenden Lösung auszusetzen. Diese — selbst nur kurz bemessene — Zeit würde ja unter Umständen schon genügt haben, um in den Zellen unter dem Einflusse der wasserentziehenden Lösung Veränderungen hervorzurufen. Um auch dieser Möglichkeit vorzubeugen, blieb nur ein Weg. Das Untersuchungsmaterial mußte schon vor und ganz besonders gleich zu Beginn der allerersten Einwirkung des plasmolysierenden Agens einer genauen mikroskopischen Beobachtung unterzogen werden. Es geschah dies in der Weise, daß in dem Objekte, das sich vorerst in destilliertem Wasser auf dem Objektträger unter dem Deckglase befand, auf eine Zelle, beziehungsweise einen Zellkomplex, eingestellt wurde. Erst dann wurde langsam vom Deckglasrande aus mittels eines Glasröhrchens die plasmolysierende Lösung zugesetzt und unter steter Kontrolle des Gesichtsfeldes allmählich unter dem Deckglase durchgesaugt. Bei einem derartigen Verfahren wird das Wasser nur nach und nach durch das Plasmolytikum ersetzt, wodurch eine kontinuierliche Beobachtung und Verfolgung des gesamten plasmolytischen Kontraktionsvorganges gesichert wird. Gleichzeitig bekommt man — für den Fall, daß größere Zellverbände vorliegen — bei Anwendung dieser Methode die einzelnen Stadien des plasmolytischen Prozesses nebeneinander zu Gesicht, da die Randzellen des Präparates oft schon beträchtlich plasmolysiert sind, während die Zellen weiter nach dem Inneren eben erst die Anfänge einsetzender Plasmolyse erkennen lassen. Schließlich wird ja die endgültige Konzentration, in der sich das Objekt befindet, derjenigen der angewandten Lösung gleich- oder doch annähernd gleichkommen. Alles das ist jedoch von untergeordneter Bedeutung, da es nicht im Sinne der hier angestellten Untersuchungen lag, die Endkonzentration zu ermitteln, sondern vor allem die ersten Stadien des plasmolytischen Vorganges unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Agentien zu erforschen. Da nun dieser ganze Prozeß aus oft sehr schnell sich ändernden ineinandergreifenden Einzelvorgängen zusammengesetzt ist, so konnten für die einzelnen Etappen bestimmte

Konzentrationsgrade der jeweilig einwirkenden Lösung nicht angegeben werden. Es mag an dieser Stelle noch darauf hingewiesen werden, daß im allgemeinen die benutzten Konzentrationen möglichst niedrig gewählt wurden, um auch dadurch einen langsamen Verlauf der Plasmolyse zu erzielen.

b. Fixierung und Färbung.

Der Versuch, die einzelnen Stadien des plasmolytischen Prozesses durch geeignete Fixierungs- und Färbemittel deutlicher zur Anschauung zu bringen, verlief zunächst resultatlos. Es war nicht möglich, auf diesem Wege die allerersten Stadien zu fixieren. Versuche, eine schnelle Abtötung mittels kochender Kalisalpeterlösung herbeizuführen, fielen negativ aus. Desgleichen war eine geeignete Fixierung mit heißem Sublimat-Alkohol nicht zu erreichen. Verdünnte Essigsäure, sowie Dämpfe von Eisessig erwiesen sich ebenfalls als unbrauchbar. Ein verwendbares Fixierungsmittel bot sich schließlich in der Osmiumchromessigsäure, von der ich einige Tropfen zu etwa 10 ccm des Plasmolytikums zusetzte. Das Untersuchungsmaterial wurde zunächst in Kalisalpeter plasmolysiert. Hierauf wurde die Fixierung und nach dem Auswaschen des Fixierungsmittels mit Salpeterlösung die Färbung mittels Eosin oder Magdalarot in Kalisalpeterlösung vollzogen. In gleicher Weise ließen sich Osmiumsäuredämpfe mit Erfolg als Fixierungsmittel anwenden. — Im weiteren Verlaufe dieser Untersuchungen stellte sich heraus, daß verdünnte Eosinlösung sehr bald direkt, ohne vorherige Anwendung von Fixierungsmitteln, besonders leicht in plasmolysierte Epidermiszellen von Allium Cepa eindringt und dabei das Plasma schön rot färbt. Andere Farbstoffe, von denen eine ganze Anzahl geprüft wurden, erwiesen sich als weniger geeignet.

Trotz zahlreicher nach dieser Richtung hin angestellter Versuche gelang es nicht, unter Benutzung von Fixierungsmitteln oder durch direkte Färbung die allerersten Stadien des plasmolytischen Prozesses zu veranschaulichen. Dieser Umstand findet dadurch seine Erklärung, daß diese Phasen schon an sich sehr schnell wechselnde Durchgangsstadien darstellen, deren rasche Veränderlichkeit durch die Einwirkung von Fixierungs- oder Färbemitteln noch bedeutend erhöht wird. Für die Erforschung der frühesten plasmolytischen Erscheinungen kam daher ausschießlich die direkte mikroskopische Beobachtung in Betracht.

c. Dauerpräparate.

Eine längere Aufbewahrung nicht fixierter Präparate in unverändertem Zustande erwies sich als undurchführbar, da schon nach sehr kurzer Zeit charakteristische, später noch eingehend zu besprechende Zerfallserscheinungen einsetzten. Auch der Versuch, gute

Präparate nach erfolgter Fixierung und Färbung in Glyzerin oder andere Medien einzubetten, schlug vollkommen fehl. Der Grund hierfür liegt in den mannigfachen tiefgreifenden Veränderungen, denen die Präparate selbst noch nach Überführung in den Dauerzustand nach allerkürzester Zeit unterworfen sind.

d. Abbildungen und Vergrößerungen.

Um ein vollkommen objektives Bild der im folgenden geschilderten Untersuchungsergebnisse zu erzielen, ist bei der bildlichen Darstellung vorwiegend die mikrophotographische Methode zur Anwendung gekommen. Doch sind dieser Arbeit auch einige mittelst Zeichenapparat angefertigte Belege beigegeben.

Bei meinen Untersuchungen benutzte ich die Vergrößerungen 62; 125; 250; 500; 1000. Diese ergaben sich aus der Kombination der Apochromat-Objektive: Brennweite 8 mm; 4 mm; 2 mm; mit den Kompensations-Okularen: 2; 4; 8.

Für die einzelnen Bilder der beiden beigefügten Tafeln ist die Vergrößerung in der Figurenerklärung besonders angegeben.

2. Untersuchungsmaterial.

Daß für die vorliegenden Untersuchungen nur vollkommen lebenskräftiges Material in Betracht kommen konnte, bedarf wohl keiner besonderen Erwähnung. Das Ausgangsobjekt bildeten verschiedene Spirogyra-Arten aus den Wasserbassins des Botanischen Gartens zu Halle. Gerade bei diesen Algen zeigte es sich öfters, daß die Verwendung kränklicher Fäden das Untersuchungsergebnis wesentlich beeinträchtigte. Neben der Güte des Materials waren die Formänderungen zu berücksichtigen, die infolge der Aufhebung des Innendruckes an manchen Zellen auftraten. So mag hier eine Erscheinung besprochen werden, die wiederholt, besonders bei großzelligen Spirogyra-Arten, beobachtet werden konnte. Nach der Plasmolyse zeigten die Fäden ihrer ganzen Länge nach in sämtlichen Zellen eine Art Längsfurchung. Es stellte sich heraus, daß diese Erscheinung lediglich durch den Deckglasdruck verursacht worden war. Dieser war zustande gekommen durch das langsame Absaugen der plasmolysierenden Lösung. Wurde der als störend erkannte Druck durch Stützen des Deckglases beseitigt, dann trat niemals eine Längsfurchung auf.

Von weiteren Versuchsobjekten sind anzuführen: Epidermiszellen der Ober- und Unterseite der Zwiebelschuppen von Allium Cepa, sowie Zellen aus dem Mesenchym dieser Zwiebelschuppen. Epidermiszellen der grünen Sproßteile von Allium Cepa. Die — den soeben angeführten — entsprechenden Teile von Hyacinthus orientalis und von Tulipa Gesneriana. Epidermiszellen der Blattunterseite von Trades-

cantia discolor und Tradescantia virginica. Gelbe Kelchblätter von Eranthis hiemalis. Blätter der weißen Blütenhüllen von Galanthus nivalis und von Leucojum vernum. Epidermis der grünen Blätter der drei letztgenannten Pflanzen. Blattepidermis von Iris germanica. Epidermis- sowie Parenchymzellen von Vallisneria spiralis. Blattparenchymzellen von Agave americana. Mesenchymzellen aus den Blattstielen von Calla palustris und Nymphaea alba. Zwischenlamellen der Blatt- und Blütenstiele von Pontederia. Zellen aus dem Fruchtfleische von Symphoricarpus racemosus. Wurzelzellen sowie Epidermiszellen der Blatt- und Stengelteile von Zea Mays (Form mit rotem Zellsafte in den Epidermiszellen). Rhizoidzellen und Zellen der grünen Teile des Farnprothalliums von Dryopteris aculeata. Blätter von Mnium affine. Blattstielhaare von Cucurbita Pepo.

Zur Untersuchung gelangten fast durchgängig mit Hilfe des Rasiermessers angefertigte Schnitte der betreffenden Objekte. Nur die Epidermispräparate wurden teils durch einfaches Abziehen der Oberhaut, teils — sofern sich durch dieses Verfahren verursachte Schädigungen bemerkbar machten — durch Anfertigen geeigneter Schnitte unter Benutzung des Rasiermessers gewonnen.

Unter den oben aufgeführten Objekten nimmt Allium Cepa in der vorliegenden Arbeit eine besondere Stellung ein. An den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen dieser Pflanze sind nämlich der Hauptsache nach die im folgenden wiedergegebenen Resultate gewonnen worden.

3. Die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen.

a. Der Dehnungs- und Zerreißungsvorgang.

Als Ausgangsmaterial für das Studium der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen dienten, wie bereits erwähnt, verschiedene Spirogyra-Arten. Bei diesen Algen gestaltet sich der plasmolytische Prozeß unter dem Mikroskope auf Grund zahlreicher Beobachtungen folgendermaßen: Läßt man zu dem Materiale, das sich in Wasser unter dem Deckglase befindet, vom Deckglasrande aus eine schwache Traubenzuckerlösung langsam zufließen, so verliert zunächst die scharfe innere Kontur der Zellwand an Deutlichkeit. Beim Beginne des Zurückweichens des Plasmaleibes sieht man zwischen diesem und der Zellwand Protoplasma sich flächenhaft ausbreiten. Nach kurzer Zeit treten in dieser homogen erscheinenden Verbindungsmasse kleine blasenartige Gebilde auf. Diese Bläschen vergrößern sich mehr und mehr, bis schließlich im weiteren Verlaufe der plasmolytischen Kontraktion das bisherige Bindeglied zwischen Zellwand und zurückweichendem Protoplasma vollständig zerreißt. Während sich dieser Vorgang abspielt, werden — bei hoher Einstellung — in der oberen Flächen-

ansicht der Zelle an verschiedenen Stellen ebenfalls größere und kleinere Blasen teilweise einzeln, teilweise in größerer Anzahl beisammen sichtbar. Fast gleichzeitig hebt sich das Zellinnere — besonders stark an den Rändern — von der Zellwand auf einigen größeren Strecken ab, während es an anderen Stellen mit derselben verbunden bleibt. Die Blasen und Bläschen verschwinden meist mit dem weiteren Fortschreiten der Plasmolyse.

Dieser hier geschilderte Verlauf der ersten plasmolytischen Kontraktionserscheinungen bei Spirogyra erinnert sehr an die Darstellungen von Pringsheim und Hofmeister. Man kann deutlich beobachten, wie sich „bei allmählicher und langsamer Einwirkung der wasserentziehenden Lösung" der protoplasmatische Inhalt „an einer oder mehreren relativ kleinen, runden Stellen" abhebt, „sodaß zwischen Zellhaut und Inhalt linsenförmige, mit wässriger Flüssigkeit erfüllte Räume sich bilden". Durch die nur stellenweise Loslösung der sich kontrahierenden Inhaltsmasse von der Zellwand erhält der Plasmaleib eine „mehrfach ausgebuchtete Form". (Hofmeister 1867, S. 14 und 15.)

Bei dem Versuche, durch Anwendung von Fixierungsmitteln die ersten Stadien des plasmolytischen Prozesses längere Zeit unverändert festzuhalten oder durch Färbung deutlicher zu machen, war meine Aufmerksamkeit auf Allium Cepa gelenkt worden, da sich die Spirogyren für Fixierungs- und Färbungsversuche wenig geeignet erwiesen. In den Epidermiszellen der Ober- und Unterseite der Zwiebelschuppen von Allium Cepa bot sich nun ein Material, das der Fixierung und Färbung weit weniger Widerstand entgegenzusetzen schien. Gleichzeitig wurde auch hier, entsprechend den Verhältnissen bei Spirogyra, die Beobachtung erleichtert durch die Einschichtigkeit der Zellverbände. Dies sicherte eine leichte Verfolgung der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen. Als Plasmolyt diente anfangs salpetersaures Kalium, später Traubenzuckerlösung.

Öfters wurde die Beobachtung bei Benutzung sehr starker Vergrößerung — naturgemäß ist dann das Gesichtsfeld auf eine enggrenzte Stelle beschränkt — dadurch beeinträchtigt, daß sich das schon kontrahierte Protoplasma im weiteren Verlaufe der Plasmolyse durch Umlagerungen und Spannungsausgleich wieder der Zellwand anlegte. Ein solcher wiederholt beobachteter Fall soll hier beschrieben werden.

Das Untersuchungsmaterial — Epidermispräparate der Zwiebelschuppen von Allium Cepa — befand sich auf dem Objektträger in Wasser unter dem Deckglase. An den Zellen war keine irgendwie abnorme Erscheinung wahrzunehmen. Die Mikrosomen der ziemlich regelmäßigen Plasmaschicht zwischen Zellwand und Vakuole befanden

sich in strömender Bewegung. An den Schmalseiten der länglichen Zellen traten mitunter kleinere und größere Plasmaansammlungen auf, die häufig eine besonders rege Plasmaströmung erkennen ließen; einige Plasmafäden durchzogen den Zellsaft. Das Mikroskop wurde nunmehr bei starker Vergrößerung auf eine tüpfelreiche Zellwand eingestellt. Durch Zusetzen einer geringprozentigen (etwa 5 prozentigen Kalisalpeterlösung an den Rand des Deckglases und durch langsames Durchsaugen wirkte diese Lösung auf das im Wasser liegende Objekt ein. Unter dem Einflusse des Plasmolytikums wich das Plasma allmählich an den von Tüpfeln freien Stellen der Zellwand zurück, während die mit Tüpfeln besetzten Stellen von dieser Abhebung nicht betroffen wurden. Diese Erscheinung blieb einige Zeit bestehen. Die Strömung im Plasma nahm dabei ruhig ihren Fortgang. Plötzlich legte sich das Plasma an den Stellen zwischen den Tüpfeln der Zellwand wieder fest an, sodaß sich ein Bild bot, wie es vor Anwendung und Einwirkung des Plasmolytikums bestanden hatte. Daß das Rückgängigwerden der geschilderten plasmolytischen Erscheinung nicht auf einen Ausgleich in der Konzentration des Plasmolytikums und des Zellsaftes zurückgeführt werden konnte, geht schon daraus hervor, daß sich das Zurückgehen plötzlich und mit einem Male auf der ganzen Länge der beobachteten Zellwand, soweit sich diese im Gesichtsfelde befand, vollzog. Eine genaue Betrachtung des gesamten Zellbildes zeigte denn auch, daß diese spontane Veränderung ihren Grund in der Loslösung des Zellinneren auf einer größeren vorher nicht im Gesichtsfelde liegenden Zellwandstrecke hatte. Das scheinbare Rückgängigwerden der Plasmolyse an der mit Tüpfeln besetzten Zellwand erklärt sich demnach einfach so, daß durch das plötzliche Losreißen des Plasmabelages von einem größeren Teile der Zellwand der durch das Plasmolytikum erzeugte Unterdruck im Innern der Zelle, der seinen ersten Ausdruck in der Abhebung zwischen den Tüpfeln gefunden hatte, vorübergehend aufgehoben worden war. — Aus dem soeben Mitgeteilten ist ersichtlich, wie vorsichtig man bei der Beobachtung und Beurteilung plasmolytischer Kontraktionserscheinungen verfahren muß.

Als das Ergebnis einer sehr großen Anzahl übereinstimmender Beobachtungen mag nunmehr die Schilderung der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen für die Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Allium Cepa folgen.

Die Kontraktionserscheinungen treten bei Allium Cepa in gleich klarer Weise bei Anwendung von Kalisalpeter wie bei Benutzung von Traubenzuckerlösungen zutage. Bei der Plasmolyse wurde stets in der schon wiederholt angegebenen Weise verfahren. Unter der langsamen Einwirkung der plasmolysierenden Lösung nimmt die Plasma-

schicht, die zuvor auf der Innenseite der Zellwand einen gleichmäßigen Belag gebildet hatte, allmählich merklich an Dicke zu. Die Plasmaschicht erreicht hierbei oft ungefähr die dreifache Stärke des ursprünglichen Belages. Schließlich sieht man das so gedehnte Plasma an einer oder an mehreren Stellen in seinem Inneren zerreißen. Bei diesem Vorgange handelt es sich nicht um ein einfaches Losreißen des Plasmabelages von der Zellwand, sondern die gesamte Plasmaschicht zerreißt in sich. Dieser Prozeß pflanzt sich langsam längs der Zellwand fort. Infolge der Zerreißung des Plasmas bleiben sehr oft kleinere und größere Plasmaportionen an der Zellwand haften, während sich die Hauptmasse mehr und mehr zusammenzieht. Die Strömung der Mikrosomen im Plasma wird durch den Zerreißungsprozeß nicht beeinträchtigt.

b. Die Fadenbildung.

Bei dem Beginne der Zerreißung treten die ersten Plasmafäden auf. Vielfach bilden sich am Rande des zurückweichenden Plasmas ebensoviele dickere, leicht sichtbare Stränge aus, wie Tüpfel vorhanden sind. Diese Plasmafäden sind bereits von früheren Autoren erwähnt und abgebildet worden. Erst bei genauerer Beobachtung unter den günstigsten optischen Verhältnissen erkennt man, auch ohne Färbung, neben diesen dickeren Strängen noch äußerst feine Fäden zwischen dem kontrahierten Plasmakörper und der Zellwand. Diese überaus zahlreichen, dabei aber sehr zarten Fäden verlaufen teils den dickeren Strängen parallel, teils führen sie, an diesen dickeren Strängen ansetzend, zu beliebigen Stellen der Membran. Als Haftstellen sowohl der gröberen, als auch der feineren Plasmafäden kommen durchaus nicht allein Tüpfel und Plasmodesmen in Betracht. Denn einerseits läßt sich in mit Tüpfeln ausgestatteten Zellen deutlich feststellen, daß ein sehr großer Teil der Fäden an solchen Stellen der Zellwände endigt, die nicht von Tüpfeln durchsetzt sind, andererseits weisen auch diejenigen Zellen, die überhaupt keine Tüpfelung und Plasmodesmendurchgänge erkennen lassen, in sehr großer Zahl starke und zarte Plasmafäden auf, sodaß das Auftreten solcher Fäden nicht ausschließlich auf das Vorhandensein von Durchgangsstellen in der Membran zweier benachbarter Zellen zurückgeführt werden kann. Ferner ließ sich — zunächst für Allium Cepa — stets mit größter Sicherheit der Nachweis erbringen, daß auch zahlreiche Plasmafäden in den Zellverbänden, wie sie in den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen vorliegen, nach der Ober- und Unterseite der einzelnen Zellen verlaufen. Hierbei ist unter Oberseite der Zelle diejenige Seite des Epidermishäutchens verstanden, welche, solange die Epidermis noch nicht von der Schuppe losgelöst ist, frei an das Außenmedium (Luft)

grenzt. Die Unterseite ist dadurch gekennzeichnet, daß sie den Mesenchymzellen der Schuppe auflagert. Wäre somit für die Unterseite des Epidermishäutchens das Vorhandensein von Tüpfelkanälen und Plasmodesmenverbindungen immerhin denkbar, so ist etwas derartiges für die freie Epidermisseite wohl völlig ausgeschlossen. Trotz alledem erstrecken sich — wie schon hervorgehoben — von dem kontrahierten Plasmakörper aus sowohl nach der Oberseite, als auch nach der Unterseite feine Plasmafäden in überaus großer Anzahl.

Durch direkte Färbung mit Eosin, ohne besondere vorhergehende Fixierung, lassen sich die Plasmafäden leichter sichtbar machen, sodaß sie photographiert werden können. (Vergl. Fig. 1 u. 3, Tafel V.) In allen den Fällen, in denen bei flüchtiger Betrachtung gar keine Verbindung des zurückgewichenen Plasmakörpers mit der Wand vorhanden zu sein scheint, treten durch Eosinbehandlung doch die feinen Fäden, die das scheinbar glatt abgehobene Plasma mit der Zellwand verbinden, deutlich hervor. Nachdem dieser Nachweis erst einmal sicher geführt war, konnte an allen untersuchten Objekten stets ohne besondere Präparation mit starker Vergrößerung (Zeiß: Apochr. 2 mm, Komp. Ok. 8) und guter Beleuchtung die Anwesenheit der Plasmafäden konstatiert werden.

Von besonderem Interesse ist es zu beobachten, daß die Dehnung sowie die Zerreißung nicht, wie man hätte annehmen können, auf das Hyaloplasma beschränkt ist. Es zeigt sich vielmehr, daß Hyaloplasma und Körnerplasma in gleicher Weise von diesen Vorgängen betroffen werden. Auch bei der Fadenbildung wird der körnerführende Teil des Plasmas stark in Mitleidenschaft gezogen. Überhaupt lassen Hyaloplasma und Körnerplasma bezüglich ihrer Beteiligung an den plasmolytischen Kontraktionserscheinungen keine Unterschiede erkennen. Als Beleg für diese Tatsache mögen einige Mikrophotographien dienen.

Es ist bei der Besprechung der Methodik bereits darauf hingewiesen worden, daß es trotz wiederholter Bemühungen nicht gelungen ist, die allerersten Stadien des plasmolytischen Vorganges durch Fixierung selbst nur kurze Zeit unverändert festzuhalten. Aus diesem Grunde konnten diese Phasen auch nicht im Bilde wiedergegeben werden. Ein immerhin noch recht frühes Stadium, wie es dem Beobachter bei plasmolytischen Versuchen leicht zu Gesicht kommt, gibt Tafel V, 1 wieder. Die Zellen sind, nach langsamer Plasmolyse in 3prozentiger Kalisalpeterlösung, mit Eosin, von dem geringe Mengen in 3prozentiger Salpeterlösung gelöst worden waren, ohne Benutzung von Fixierungsmitteln gefärbt worden. Die Zellwand ist von einer Anzahl Tüpfel durchsetzt. Die zwischen Zellmembran und sich kontrahierendem Plasmaleibe sichtbaren zarten Plasmafäden

lassen allerdings wenig von einer Beziehung zu den Tüpfeln erkennen, doch weisen die starken Ausstülpungen des Plasmas, an denen die feinen Fäden zum großen Teile ansetzen, zweifellos auf ihren ursprünglichen Zusammenhang mit den Tüpfelkanälen hin. In der Zelle, die sich in diesem Bilde links befindet, scheint das Plasma glatt abgehoben zu sein. Bei genauerer Betrachtung waren jedoch auch hier zwischen der Zellwand und dem kontrahierten Protoplasten feine Fäden zu erkennen. Die Undeutlichkeit der Plasmafäden in der linken Zelle ist darauf zurückzuführen, daß es aus optischen Gründen meist sehr schwer, ja oft sogar ganz unmöglich war, selbst in benachbarten Zellen dieselbe Erscheinung mit gleicher Schärfe auf der photographischen Platte zur Darstellung zu bringen.

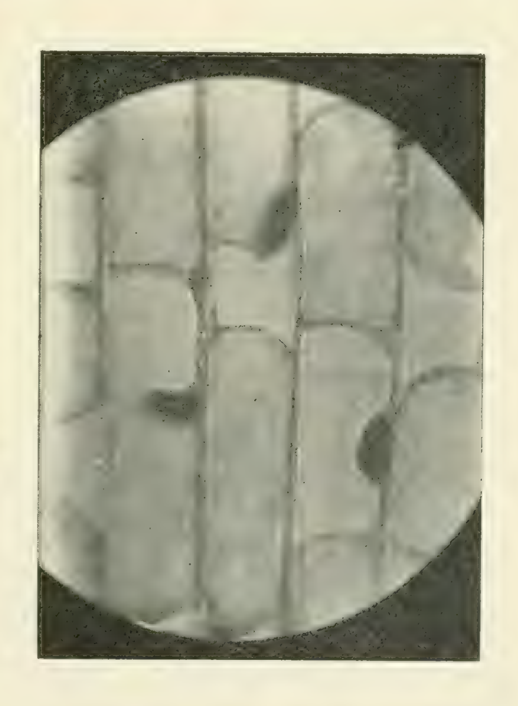
Daß es tatsächlich häufig die Tüpfel sind, die das Haftenbleiben des Plasmas bei Plasmolyse bedingen, lehrt die Abbildung 2 der Tafel V, in der das kontrahierte Plasma mit den Tüpfeln durch starke Stränge verbunden ist. In diesem Präparate war noch Osmiumchromessigsäure als Fixierungsmittel verwandt worden, da mir damals die Eigenschaft des Eosins, in verdünnter Lösung das Plasma von Allium Cepa direkt, ohne vorhergegangene Fixierung, zu färben, noch unbekannt war. Fig. 1 sowie Fig. 2 zeigen, wie an den plasmolytischen Kontraktionserscheinungen sowohl Hyalo- wie Körnerplasma beteiligt sind. Figur 1 läßt in den Plasmaausstülpungen, Figur 2 selbst in den dickeren Plasmafäden deutlich Mikrosomen erkennen. Diese Beobachtungen stehen durchaus mit den Angaben Strasburgers im Einklange: „Was in Gestalt von Fäden beim Rückzug der plasmolysierten Protoplasten ausgesponnen wird, ist andererseits unbedingt nicht Hautschicht allein. Vielmehr nimmt die Grundsubstanz des sogenannten Körnerplasma, das vorwiegend aus Trophoplasma besteht, an dieser Fadenbildung teil. Nicht selten ist ein solcher Faden merklich dicker, ja viel dicker als die Hautschicht, sodaß diese allein ihn in solcher Dicke nicht erzeugen könnte; unter Umständen schließt ein solcher Faden sogar körnige Bildungen ein.“ (1901, S. 566.)

Es ist seit langem bekannt, daß die Plasmafäden im weiteren Verlaufe der Plasmolyse eine beträchtliche Länge erreichen können. Trotzdem möchte ich an dieser Stelle auf die Mikrophotographie Tafel V, 3 hinweisen, die in guter Weise veranschaulicht, wie überaus zahlreich und zart diese Fäden meist sind. Auch in diesem Bilde nimmt das Körnerplasma an der Bildung der stärkeren Fäden teil.

c. Die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen im besonderen.

Ein Blick auf die drei bisher besprochenen Mikrophotographien lehrt, daß die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen durchaus

nicht in der glatten Form vor sich gehen, wie es eigentlich auf Grund der heutigen Auffassung anzunehmen gewesen wäre. Es ist bereits versucht worden, die Faktoren, welche die herrschende Vorstellung vom plasmolytischen Prozesse herausbilden halfen, kurz zu kennzeichnen. An dieser Stelle sei nur noch einmal auf die schematische bildliche Darstellung der gerade für uns hier wesentlichen Kontraktionserscheinungen hingewiesen, wie sie de Vries gegeben hat. Diese Bilder lassen eine vollkommen glatte Abhebung vermuten. Von einer solchen ist jedoch in den ersten Stadien der Plasmolyse nie etwas zu erkennen. Recht unregelmäßig geht vielmehr von Anfang an — selbst bei der Einwirkung solcher Konzentrationen (etwa 3prozentiger Kalisalpeterlösung), die gerade Plasmolyse verursachen — die Kontraktion des Protoplasten vonstatten. (Vergl. Fig. 1 u. 2, Tafel V.) Besonders in langgestreckten Zellen trennt sich der Plasmakörper meist sehr bald in zwei und mehr je eine große Vakuole umschließende Teile (siehe nebenstehende Figur). Die Teilstücke stehen, wenigstens anfangs, durch ansehnliche Plasmabrücken miteinander in Verbindung. Diese Brücken sind sämtlich aus mikrosomenführendem Plasma gebildet. Mitunter ist dem Verbindungsstücke sogar der Zellkern eingelagert. Von einer differenzierten Hyaloplasmaschicht ist in solchen Präparaten nichts zu erkennen.



Bei längerer Einwirkung schwach plasmolytischer Lösungen oder auch bei Verwendung stärkerer Lösungen, durch die ja nur die einzelnen Phasen des Kontraktionsvorganges wesentlich verkürzt werden, macht sich in dem kontrahierten Protoplasten die Tendenz bemerkbar, die Oberfläche gegen das umgebende Medium möglichst zu verkleinern, d. h. mehr und mehr Ellipsoid- oder Kugelgestalt anzunehmen. So erklärt es sich, daß nach nicht allzulanger Zeit die Unregelmäßigkeiten und Ausbuchtungen an der Oberfläche des sich kontrahierenden Plasmaleibes ausgeglichen werden. Auf diese Weise

würde ein Bild entstehen, wie wir es in Figur 3, Tafel V vor uns haben, nur daß dann auch die Plasmafäden zum allergrößten Teile oder gar vollständig verschwunden sind. — Doch hierüber wird an einer späteren Stelle noch ausführlicher zu berichten sein. — In der Figur 3, Tafel V hatte auf die Zellen nach und nach 10prozentige Kalisalpeterlösung eingewirkt. Das Bild, welches bereits ein vorgeschritteneres Stadium der Plasmolyse wiedergibt, läßt neben den zahlreichen überaus feinen Plasmafäden in den dickeren Plasmavorstülpungen noch deutlich erkennen, daß sich auch hier die Plasmolyse anfangs durchaus nicht in der bisher angenommenen glatten Form vollzogen hat. Es muß daher an dieser Stelle noch einmal auf die Angaben von H. de Vries eingegangen werden.

Bereits eingangs ist in den vorliegenden Untersuchungen darauf hingewiesen worden, daß auf die heute herrschende Ansicht die Abbildungen, die von de Vries als Erläuterung des plasmolytischen Prozesses gegeben worden sind, sicher einen starken Einfluß ausgeübt haben. Nun sind aber von de Vries aus dem Anfangs- (Fig. 1) und Endstadium (Fig. 4) heraus die beiden Zwischenstadien (Fig. 2 u. 3) schematisch konstruiert worden ohne weitere Berücksichtigung der durch die direkte Beobachtung erzielten, von diesem Schema wesentlich abweichenden Untersuchungsergebnisse. Hatten doch schon Nägeli und Hofmeister auf „den früheren Eintritt des Rückzuges des Zellinhaltes von den langen, den späteren von den kurzen Wänden der Zelle“ aufmerksam gemacht. Eine einfache Nachprüfung dieser Befunde hätte demnach die de Vriessche Darstellung sofort als unzutreffend erweisen müssen. In Wirklichkeit läßt sich die Stelle, an der in der Zelle unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Lösungen die ersten Kontraktionserscheinungen auftreten, unmöglich durch ein bestimmtes Schema festlegen. Meist machen sich ja nach meinen Beobachtungen die Kontraktionserscheinungen in langgestreckten Zellen zunächst an den Längswänden bemerkbar. Es sind mir jedoch auch Fälle zu Gesicht gekommen, bei denen die Plasmolyse zuerst an den Endflächen einsetzte. — Soviel steht bei alledem fest, daß die Angaben von de Vries über die bei dem Loslösungsvorgange eingehaltene Reihenfolge, mag dieselbe auch mitunter den tatsächlichen Verhältnissen annähernd entsprechen, keine allgemeine Gültigkeit beanspruchen können.

d. Der Einfluß der Konzentration des angewandten Plasmolytikums.

Chodat und Boubier sowie Strasburger haben darauf hingewiesen, daß sich bei Anwendung von Kalisalpeterlösungen die Fadenbildung erst mit steigender Konzentration einstellt. Dem stehen

die Beobachtungen von Pringsheim und Hofmeister gegenüber, die beide die Notwendigkeit der vorsichtigen Anwendung der Plasmolytika in großer Verdünnung betonten, um die plasmolytischen Kontraktionsvorgänge deutlich in Erscheinung treten zu lassen. Hofmeister schreibt: „Je konzentrierter, bis zu einem gewissen Grade, über den hinaus eine störende Einwirkung auf die Organisation des Protoplasma erfolgt, eine und dieselbe Lösung verwendet wird, um so gleichmäßiger zieht sich der Inhalt von der Wand zurück." (1867, S. 15.)

Die Untersuchungen dieser Arbeit haben zu dem Resultate geführt, daß stets, selbst bei Benutzung solcher Lösungen, die eben ein sichtbares Zurückweichen des Plasmas von der Zellwand zur Folge hatten, das erste Auftreten von Plasmafäden direkt festgestellt werden konnte. Es kann durchaus nicht wundernehmen, daß die Fadenbildung schon bei sehr niedriger Konzentration des Plasmolytikums in Erscheinung tritt, wenn man berücksichtigt, daß das Zustandekommen der Plasmafäden lediglich eine Folgeerscheinung des Zerreißungsvorganges der Plasmaschicht ist. Daß die Plasmolytika möglichst langsam und zugleich in genügender Verdünnung auf die Objekte einwirkten, das war einerseits durch die angewandte Methode gewährleistet, andererseits war dies für das Studium der ersten plasmolytischen Kontraktionserscheinungen eine direkte Notwendigkeit.

e. Die Zerfallserscheinungen der Plasmafäden.

Die bei der Plasmolyse entstehenden Plasmafäden vermögen sich nur eine beschränkte Zeitlang zu erhalten. Die feineren Fäden zerfallen sehr bald, weniger schnell in Zuckerlösung, rascher in Salpeterlösung. Eine größere Haltbarkeit durch Fixierung zu erzielen, gelingt nicht. In Präparaten, die mit Osmiumchromessigsäure oder Eosin behandelt sind, findet trotzalledem ein körniger Zerfall der Fäden statt. Nach kürzerer oder längerer Zeit verlieren auch die gröberen Fäden ihre scharfen Konturen sowie ihre Spannung. Oft zerreißen die Plasmafäden an einer beliebigen Stelle zwischen kontrahiertem Plasmaleibe und Zellwand. Dann zieht sich der eine Teil des Fadens auf die Hauptplasmamasse zurück, während der an der Wand verbleibende Teil ein Plasmatröpfchen bildet. Nicht selten kann man auch beobachten, wie Plasmafäden an der Zellwand losreißen, ohne daß sie dann stets von dem kontrahierten Protoplasten eingezogen werden. Die so nur noch einseitig befestigten Plasmafäden vollführen lebhafte Schwingungen. Weit häufiger als die beiden soeben wiedergegebenen Möglichkeiten ist der mit größter Regelmäßigkeit über kurz oder lang einsetzende Zerfall der Plasmafäden. Das Eintreten der Zerfalls-

erscheinungen ist an zahlreichen Präparaten eingehend studiert worden. Auf Grund dieser Beobachtungen verläuft der Vorgang wie folgt.

Anfangs zeigen die sichtlich straff gespannten Plasmafäden, von den den dickeren Strängen eingelagerten Mikrosomen abgesehen, ein homogenes Aussehen. Die Konturen sind scharf umrissen. Nach einiger Zeit sieht man in den Fäden spindelförmige Plasmaansammlungen auftreten. Die Einschnürungen werden nach und nach deutlicher, bis schließlich ein Stadium erreicht wird, wie es Figur 4, Tafel V veranschaulicht. Die Epidermiszellen sind zwar in diesem Präparate mit Osmiumchromessigsäure fixiert und dann erst mit Eosin gefärbt worden, um eine möglichst scharfe photographische Aufnahme zu erzielen, doch möchte ich besonders betonen, daß der Zerfall der Fäden bereits eingetreten war, noch ehe Fixierung und Färbung vorgenommen wurden.

Gleichzeitig mit dem Einsetzen der Zerfallserscheinungen beginnt mitunter der kontrahierte Protoplast die Ausbuchtungen und Vorsprünge an seiner Oberfläche auszugleichen. Ob der Abrundungsvorgang eine Folgeerscheinung des Zerfalls und der dadurch verursachten Entspannung der Plasmafäden ist, oder ob die Plasmafäden zerfallen infolge der Tendenz des kontrahierten Protoplasten, seine Oberfläche nach Möglichkeit zu verkleinern, ist eine offene Frage. Man kann jedoch wohl annehmen, daß beide Vorgänge bis zu einem gewissen Grade selbständig sind. Zu dieser Vermutung berechtigen zwei Tatsachen. Einmal gehen nämlich die Abrundungserscheinungen häufig vor sich, ohne daß dadurch die Plasmafäden übermäßig stark in Mitleidenschaft gezogen werden oder nur etwas von dem beschriebenen Zerfall erkennen lassen. Sodann treten oft diese Zerfallserscheinungen der Fäden in ihren einzelnen Phasen in schönster Form zutage, ohne daß der kontrahierte Protoplast während dieses Vorganges an seiner Oberfläche auch nur die geringsten Veränderungen aufweist. Im allgemeinen darf man sagen, daß die Abrundungsbestrebungen den Zerfallserscheinungen voraufgehen. Eine direkte innigere Beziehung dieser beiden Vorgänge zueinander läßt sich dabei nicht sicher feststellen. — Weit wahrscheinlicher als Erklärung der Zerfallserscheinungen ist die Annahme, daß sich in den Plasmafäden Absterbeerscheinungen geltend machen. Diese finden ihren ersten Ausdruck in einem Nachlassen der anfänglich zweifellos vorhandenen Spannung. Es folgt dann der Verlust des homogenen Aussehens und der scharfen Konturen, dem sich die spindelförmigen Kontraktionen und der endgültige Zerfall anschließen.

Da es geboten ist, an einer späteren Stelle noch einmal auf die soeben behandelten Erscheinungen einzugehen, so mag hier nur noch eine Mitteilung aus der Literatur eingefügt werden, die ein treffliches

Seitenstück zu den besprochenen Beobachtungen abgibt. In der Arbeit „Die Plasmaverbindungen und Membranen von Volvox globator, aureus und tertius" von A. Meyer heißt es S. 194: „. . . . Weiter gehen die Veränderungen in der Form der Plasmaverbindungen, wenn man die Kugel stärker drückt, sodaß sie platzt, oder wenn man die Kugel längere Zeit unter Druck erhält, sodaß die Zellen langsam absterben. Die ganze Masse der gequollenen Plasmaverbindungen scheint dann mehr und mehr den Gesetzen zu gehorchen, welche leblose Flüssigkeiten beherrschen. Man erhält Erscheinungen, wie sie bei jeder zähflüssigen Flüssigkeit zu beobachten sind, welche man in Wasser zu einem Faden ausgezogen hat. Es entstehen im Faden spindelförmige Anschwellungen, an deren Enden der Faden verdünnt erscheint; die Spindeln ziehen sich mehr und mehr zu Kugeln zusammen, welche dann nur durch sehr feine Fäden verbunden sind (»kettig« gewordene Plasmaverbindungen), die unter Umständen auch durchreißen können (»Tropfigwerden« der Plasmaverbindungen)." Diese Darstellung deckt sich in weitgehendem Maße mit unserer Schilderung der Zerfallserscheinungen der Plasmafäden.

f. Schädigungserscheinungen.

Bei der Schilderung der ersten Stadien der Plasmolyse ist gezeigt worden, wie das anfangs stark gedehnte Plasma bald in seinem Inneren Bläschen, Vakuolen, entstehen läßt, die durch ihre Ausdehnung bei der Zerreißung des Plasmabelages die Hohlräume zwischen Plasmakörper und Zellwand bilden. Mitunter bleiben diese Bläschen im Innern des sich kontrahierenden Protoplasmas als geschlossene Tröpfchen einige Zeit bestehen. Für das Verständnis des Losreißens des Plasmas von der Zellwand ist die Entstehung dieser Vakuolen ein wichtiger Vorgang. Ihre Ursachen mußten daher geprüft werden. Es konnten diese Blasen durch das Zerreißen des Plasmas zustande kommen, aber möglicherweise auch durch die schädigende Wirkung des Plasmolytikums hervorgerufen sein. Über die Bedeutung der Blasenstruktur für das Losreißen glaubte ich, Aufklärung erhalten zu können, wenn es gelang, die Bläschen in einer nicht plasmolysierten Zelle zu erzielen und dann nachträglich das Plasma zur Kontraktion zu bringen. Eine künstliche Erzeugung der Blasenstruktur konnte auch allein darüber Klarheit verschaffen, ob wirklich die Erscheinung einer Schädigung zuzuschreiben ist. Folgende Stoffe wurden auf ihre Fähigkeit, Blasen zu erzielen, untersucht: Äther, Alkohol, Chloroform, Essigsäure. Versuche mit den drei erstgenannten Reagentien, die in Dampfform zur Verwendung kamen, zeitigten kein Resultat. Dagegen rief die Einwirkung sehr verdünnter Essigsäure vor der Plasmolyse eine Art Blasenstruktur hervor, die jedoch von der bei normaler Plas-

molyse beobachteten verschieden ist. Die Blasenstruktur trat besonders deutlich zutage, nachdem die auf diese Weise geschädigten Zellen plasmolysierenden Lösungen ausgesetzt worden waren. Daß die Zellen durch die Einwirkung der sehr verdünnten Essigsäure nur geschädigt, nicht aber vollkommen abgetötet waren, ging aus dem Vorhandensein einiger starker Plasmafäden hervor, welche sich bei der Plasmolyse gebildet hatten.

Hieran mag gleich eine ähnliche Beobachtung angeschlossen werden: Es handelte sich um Schnittpräparate von der Außenseite der Zwiebelschuppen von Allium Cepa. Anscheinend gesunde Zellen, die dem Rande des Präparates, das sich in Wasser unter dem Deckglase befand, nahelagen, zeigten nach kurzer Zeit deutliche Absterbeerscheinungen. Diese äußerten sich in der Kontraktion des Zellinneren. Außerdem trat häufig Vakuolenbildung auf, Erscheinungen, wie sie sich sonst dem Beobachter nur bei normal eingeleiteter Plasmolyse darbieten. Selbst stärkere Plasmafäden waren in einigen Zellen, in denen sich der Zelleib zusammengezogen hatte, wahrnehmbar. Epidermiszellen von der Innenseite der Allium Cepa-Schuppen boten mitunter dieselben Bilder. In diesem Falle waren die Präparate nicht durch Schnitt, sondern durch einfaches Abziehen des Oberflächenhäutchens gewonnen worden. Diese gesamte Erscheinung ist um so auffallender, da das Zellmaterial in keiner Weise mit irgend einem Plasmolytikum in Berührung gekommen oder sonstwie schädigenden Einwirkungen ausgesetzt gewesen war. Trotzdem läßt sich dieser Vorgang wohl kaum anders deuten als durch die Annahme, daß die dem Rande des Präparates naheliegenden Zellen durch die Präparation geschädigt worden waren.

Treten demnach auch bei Schädigung des Zellkörpers Vakuolenbildung, Kontraktionserscheinungen und Fadenbildung auf, so ist die Beschaffenheit dieser Gebilde doch von den bei normaler Plasmolyse zustande kommenden analogen Erscheinungen wesentlich verschieden. Die Ausbildung von Plasmafäden läßt sich ja zuweilen als Schädigungserscheinung bei der Kontraktion beobachten, doch ist die Anzahl dieser Fäden meist äußerst gering, und dann sind dieselben fast stets von solcher Stärke, daß ihnen viel eher an Stelle des Wortes „Plasmafäden" die Bezeichnung „Plasmaausstülpungen" zukommt. — Mögen daher die hier geschilderten Veränderungen, wie sie sich unter dem Einflusse verschiedener schädigender äußerer Faktoren erzielen lassen, auch in manchen Punkten an den normalen plasmolytischen Kontraktionsvorgang mit seinen Begleiterscheinungen erinnern, so muß dabei doch nachdrücklich hervorgehoben werden, daß die beiderseitigen Abweichungen zu beträchtlich sind, als daß diese Erscheinungen ohne weiteres identifiziert werden könnten.

4. Die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen bei weiteren Versuchsobjekten.

Die bisher gegebene Schilderung des Verlaufes der plasmolytischen Kontraktions- und Zerfallserscheinungen bei Spirogyra und Allium Cepa ist an einer ganzen Reihe weiterer Objekte nachgeprüft worden. Um eine erneute Aufzählung des gesamten Untersuchungsmateriales zu umgehen, sei hier auf die Zusammenstellung S. 154 u. 155 dieser Arbeit verwiesen. Keines der untersuchten Objekte ließ besondere Abweichungen erkennen, die nicht in den Gang des normalen plasmolytischen Verlaufes hineingepaßt, oder gar mit den obigen Angaben in Widerspruch gestanden hätten. Es ist wohl selbstverständlich, daß sich unter dem Untersuchungsmateriale wenigstens zum Teil auch diejenigen Objekte befinden mußten, die den neueren Angaben über Plasmolyse zugrunde liegen.

Daß die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen, im besonderen die Ausbildung der Plasmafäden, nicht bei allen Objekten in gleich deutlicher Weise der Beobachtung zugänglich sein würden, war von vornherein anzunehmen. Meistens wird eine von Haus aus einschichtige Zellage der mikroskopischen Beobachtung weit weniger Schwierigkeiten entgegensetzen, als ein wenn auch noch so gutes Schnittpräparat aus einem Zellverbande. Ferner kommen zweifellos kleine Unterschiede in Betracht, die nicht zum wenigsten in der verschiedenen Empfindlichkeit und Konsistenz des Plasmas bei den einzelnen Objekten ihren Grund haben. So lassen sich die Plasmafäden bei manchen Objekten nur unter Benutzung der besten optischen Hilfsmittel sicher nachweisen. Hierbei ist mitunter weniger die Stärke der Vergrößerung als die Güte der Linsen von ausschlaggebender Bedeutung. Der Versuch, in solch zweifelhaften Fällen durch Fixierung oder durch direkte Färbung die Frage zu entscheiden, ist oft undurchführbar. Es ist das nicht selten auf die schon erwähnte große Empfindlichkeit des Plasmas gegen jeden äußeren Einfluß zurückzuführen.

Bei Spirogyra, Vallisneria, Mnium affine und Dryopteris aculeata machte sich dieser Faktor bei der Untersuchung besonders störend bemerkbar. Anfänglich erweckte es daher bei oberflächlicher Betrachtung häufig den Anschein, als ob bei diesen Objekten Abweichungen von den gewöhnlich beobachteten plasmolytischen Kontraktionserscheinungen vorlägen. Eine genauere Untersuchung erwies jedoch diese gehegte Vermutung stets als haltlos. Mit größter Regelmäßigkeit ließen sich auch bei diesen Objekten bei vorgeschrittenerer Plasmolyse überaus zahlreiche, dabei aber meist äußerst zarte Plasmafäden nachweisen, die zwischen der Zellwand und dem sich kontrahierenden Protoplasten verliefen. Bei alledem ist die Viskosität des Plasmas hier scheinbar sehr gering, sodaß dadurch die Fähigkeit

desselben, Druck- und Zugkräften erfolgreich zu widerstehen, stark herabgemindert wird. So erklärt es sich wohl auch, daß die Abrundung des kontrahierten Protoplasten bei diesen Objekten meist schon nach kürzester Zeit vollendet ist. Daher kann man — sofern man den Kontraktionsvorgang nicht von der ersten Einwirkung des Plasmolytikums an unter dem Mikroskope genau verfolgt hat — oft nur aus dem an den verschiedensten Punkten der Zellwand sichtbaren größeren und kleineren Plasmatröpfchen einen Rückschluß machen auf die Unregelmäßigkeit, mit der sich auch hier in den Anfangsstadien der Plasmolyse der Protoplast von der Zellwand zurückzieht. Diese Plasmaansammlungen weisen sehr oft zahlreiche in lebhafter Bewegung befindliche Mikrosomen auf, doch gehören auch größere Einschlüsse, wie Chlorophyllkörner, durchaus nicht zu den Seltenheiten. Es ist das wenig auffallend, da ja die Ursachen für das Zustandekommen dieser Erscheinungen dadurch gegeben sind, daß der Kontraktionsvorgang durch die Zerreißung des gesamten Plasmabelages eingeleitet wird. Der Umstand, daß sich oft neben den Mikrosomen auch Chlorophyllkörner in den Plasmaansammlungen auf der Zellwand vorfinden, liefert daher den besten Beweis dafür, wie tiefgreifend die Veränderungen sind, denen der Protoplasmakörper unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Agentien ausgesetzt ist. Von einer bloßen Inanspruchnahme der Hyaloplasmaschicht bei den Kontraktionsvorgängen kann angesichts dieser Beobachtungen wohl kaum die Rede sein.

Bei der großen Empfindlichkeit des Plasmas der soeben angeführten Objekte blieb — wie wir sahen — als stets zuverlässiges Mittel, jedesmal zum Ziele zu gelangen, nur die direkte, kontinuierliche mikroskopische Beobachtung. An der Hand dieser sichersten aller Untersuchungsmethoden ist es in der vorliegenden Arbeit immer geglückt, die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen und im besonderen die Ausbildung der Plasmafäden sicherzustellen.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle von den auf S. 154 u. 155 angeführten Objekten, bei denen sich ausnahmslos die bisher besprochenen plasmolytischen Kontraktionserscheinungen beobachten lassen, noch auf Hyacinthus orientalis, Tradescantia discolor, T. virginica, Agave americana hinweisen. Es sind das zusammen mit den bereits besprochenen: Spirogyra, Allium Cepa, Vallisneria spiralis, die wichtigsten der Objekte, welche den Untersuchungen von de Vries in seinen „Plasmolytischen Studien über die Wand der Vakuolen“ (1885) zugrunde liegen. — Was für die hier besonders hervorgehobenen Objekte gilt, das trifft in gleichem Maße für Zea Mays zu. Plasmolysierte Wurzelzellen dieser Pflanze sollen ja in Pfeffers „Pflanzenphysiologie“ (1897, Bd. 1, S. 116) die einzelnen

Stadien des Kontraktionsvorganges bildlich zur Anschauung bringen. Es muß wiederholt werden, daß auch diese Darstellung nur als Schema der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen gelten kann, da der tatsächliche Verlauf dieses Vorganges, der sich sowohl in Wurzel- wie in Epidermiszellen der Blatt- und Stengelteile von Zea Mays in keinem Punkte von den für Allium Cepa geschilderten Erscheinungen unterscheidet, wesentliche Abweichungen von diesem Schema aufweist.

Bei der Besprechung der Entstehung der Plasmafäden unter dem Einflusse plasmolysierender Agentien war schon bei den Epidermiszellen von Allium Cepa betont worden, daß sich hierbei keinerlei Bevorzugung der einzelnen Zellwände erkennen läßt (S. 158 unten). Es ist dies, wie wir sahen, durch den Zerreißungsvorgang in der wandständigen Plasmaschicht begründet, dem die Plasmafäden ihre Entstehung und weitere Ausbildung verdanken. Dieser überall bei Plasmolyse eintretende Zerreißungsprozeß erklärt ohne weiteres auch das Auftreten von Plasmafäden in Zellen, die keinem allseits geschlossenen Zellverbande angehören. In solchen Fällen verlaufen daher die Plasmafäden ebenso zahlreich nach den frei an das Außenmedium grenzenden Zellwänden, wie nach den Wänden zweier benachbarter Zellen. Lag nun in den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Allium Cepa bereits Material vor, das diese Verhältnisse deutlich erkennen ließ, so traten diese doch erst in klarster Form bei solchen Objekten zutage, deren Zellen möglichst allseitig — nicht wie bei den Epidermiszellen nur einseitig — mit dem Außenmedium in direkter Berührung standen. Derartige Voraussetzungen treffen zu für: Spirogyra, Rhizoidzellen von Dryopteris aculeata, Blattstielhaare von Cucurbita Pepo.

Auf die S. 154 u. 155 aufgezählten Objekte hier noch im einzelnen einzugehen, erübrigt sich, da eine solche Einzeldarstellung nichts Neues bringen könnte. Zudem wird sich Gelegenheit bieten, einige dieser Objekte noch an einer späteren Stelle genauer zu besprechen.

II. Die Ursachen für das Haftenbleiben der bei der Plasmolyse entstehenden Fäden an der Zellwand.

Im Verlauf der Vorstudien zur genauen Feststellung der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen war meine Aufmerksamkeit des öfteren durch folgende Erscheinung erregt worden. Es zeigte sich an verschiedenen Objekten, daß nach erfolgter Plasmolyse die Zellwände größere und kleinere Reste von Plasma noch an den Stellen aufwiesen, an welchen der Plasmaleib bereits vollkommen von der Membran zurückgewichen war. Einen derartigen Zustand soll Tafel V, 5 wiedergeben. Diese Abbildung der aus dem Marke einer Calla stammenden Zellen läßt erkennen, daß in diesem Falle von dem sich

kontrahierenden Plasmaleibe nicht nur kleinere Plasmareste — bei a an der getüpfelten Zellwand —, sondern auch größere Partien als plasmatischer Belag der Zellwände — bei b — zurückgelassen worden sind. Die Erscheinung tritt besonders deutlich da zutage, wo der kontrahierte Protoplast noch mit der Membran in Verbindung steht. Hier erreicht der Belag eine ganz beträchtliche Dicke. Das Studium der plasmolytischen Kontraktionserscheinungen hat nun ergeben, daß die Entstehung dieser Plasmaansammlungen durch die Art und Weise des Verlaufes der ersten Phasen der Plasmolyse bedingt ist. Macht sich doch unter der Einwirkung plasmolysierender Agentien zunächst eine merkliche Dehnung des plasmatischen Zellinhaltes geltend, deren Folgeerscheinung die Zerreißung der Plasmaschicht ist. Noch einmal sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß sich dieser Prozeß der Zerreißung nicht in einem plötzlichen stellenweisen Loslösen des Plasmas von der Zellwand kundtut, sondern daß es sich hierbei um eine Zerreißung des wandständigen Zellplasmas in sich handelt, ganz unabhängig von der Grenzschicht zwischen Plasmakörper und Zellmembran. Häufig kann man an plasmolysierten Zellen schon sehr bald mehr oder weniger selbständige Plasmaportionen beobachten. Vollkommen unabhängig erscheinen diese Plasmareste jedoch erst dann, wenn die Zerfallserscheinungen der Plasmafäden sowie die Abrundung der Hauptmasse des kontrahierten Protoplasten sich vollzogen haben. Findet somit die Entstehung der Plasmaansammlungen in den Zerreißungs- und Zerfallserscheinungen ihre Erklärung, so gibt die Kenntnis dieser Entstehungsursachen doch noch keinen Aufschluß über die Frage, worauf denn überhaupt das Haftenbleiben der durch den Zerreißungsvorgang entstehenden Plasmafäden und Plasmaansammlungen an der Zellwand zurückzuführen ist. Tüpfel und Plasmodesmen kommen für das Festhaften von Plasma an der Membran nicht allein in Frage. Das war bereits durch eine ganze Reihe von Autoren sichergestellt worden. Außerdem boten die dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen hinreichende Belege für diese Tatsache. (Tafel V, 1, 3.) Es schien demnach eine lohnende Aufgabe zu sein, einmal den Ursachen, welche das Haftenbleiben der bei der Plasmolyse entstehenden Plasmafäden an der Zellwand bedingen, nachzugehen.

1. Methodik und Material.

Hinsichtlich der Art und Weise, wie das Untersuchungsmaterial der Einwirkung der Plasmolytika ausgesetzt wurde, sei auf die Darstellung S. 151 dieser Arbeit verwiesen. Da Spirogyra infolge der großen Empfindlichkeit dieses Objektes wenig geeignet war, wurden die im folgenden beschriebenen Untersuchungen zunächst ausschließlich an Allium Cepa durchgeführt, um dann an anderen Objekten

nachgeprüft zu werden. Dieser Umstand wird es rechtfertigen, daß hier vorerst eine eingehende Schilderung der Beobachtungen und Untersuchungsergebnisse an Allium Cepa folgen wird, an die sich dann eine Besprechung der analogen Verhältnisse bei den übrigen Objekten anschließen soll.

Die Bemühungen, die oben aufgeworfene Frage durch Einstellen des Mikroskopes auf die vertikale Scheidewand zweier benachbarter Zellen zu klären, waren ohne Erfolg. Auch die Anwendung von Fixierungs- und Färbemitteln führte zunächst nicht zum Ziele. Aus diesem Grunde wurde die obere bzw. untere Flächenansicht, die man bei hoher bzw. tiefer Einstellung in den Zellen zu Gesicht bekommt, einer genaueren direkten mikroskopischen Betrachtung unterzogen. Die Klarheit und Übersichtlichkeit des Objektes erleichterte auch hier wiederum die Beobachtung wesentlich. Im übrigen trifft für die folgenden Untersuchungen alles das zu, was S. 151—154 in dem Abschnitte über „Methodik" bereits gesagt worden ist.

2. Die Zellwandnetzstruktur bei Allium Cepa.

a. Entstehung.

Bevor an dieser Stelle eine genaue Schilderung der Entstehung der zu behandelnden Erscheinungen gegeben wird, dürfte es des leichteren Verständnisses wegen von Vorteil sein, zunächst diese Erscheinungen in ihrer Vollendung nach erfolgter Plasmolyse an der Hand der Bilder Tafel V, 6 und Tafel VI, 1 und 2 zu besprechen.

Tafel VI, 1 gibt die Flächenansicht einer Epidermiszelle einer Allium Cepa-Schuppe wieder. Das Objekt war — bei der durch das Verfahren des langsamen Durchsaugens bedingten allmählichen Steigerung der Konzentration des Plasmolytikums — schließlich mit 9prozentiger Kalisalpeterlösung plasmolysiert und mit Eosin gefärbt worden. An den Stellen, an denen der kontrahierte Plasmaleib von der Zellwand zurückgewichen ist, zeigt sich, dieser eng anliegend, ein verzweigtes Netzwerk. Die Bezeichnung „Netzwerk" dürfte vielleicht nicht ganz den eigentlichen Kern der Sache treffen, da man doch in der Regel unter „Netzwerk" ein aus geschlossenen Maschen bestehendes Gebilde versteht. Immerhin darf dieser Ausdruck auf die hier vorliegende Erscheinung wohl Anwendung finden, da diese mit einem Netzwerke große Ähnlichkeit hat. Infolge seiner Zartheit ließ das protoplasmatische Netzwerk bei Behandlung mit Eosin in dem der Figur 1 Tafel VI zugrunde liegenden Präparate eine weniger intensive Färbung erkennen, als das bei a stark kontrahierte Zellplasma. Plasmanetz und Hauptplasmamasse gehen deutlich ineinander über, sodaß kein Zweifel über die Herkunft des Netzwerkes bestehen kann. Das verästelte Fadensystem schließt an verschiedenen Stellen gröbere (b)

sowie feinere (c) Plasmaansammlungen ein, die ihrerseits Stellen aufweisen, die frei von Plasma zu sein scheinen. Auch die Hauptplasmamasse läßt Stellen größerer (d) und geringerer (e) Dichte erkennen.

Es lag nahe, das Auftreten der Netzstruktur auf die für manche plasmolytisch wirkende Agentien bekannte schädigende Einwirkung auf das Plasma zurückzuführen. Da auch Kalisalpeter in dieser Hinsicht nicht ganz unschädlich sein soll, so war eine derartige Annahme wohl begründet. Es stellte sich jedoch heraus, daß unter dem Einflusse des Traubenzuckers, eines, soweit wir wissen, absolut indifferenten Stoffes, Bilder zustande kommen, die sich von dem in Tafel VI, 1 reproduzierten in nichts unterscheiden. Daß dem so ist, zeigt Figur 2, Tafel VI. Hatte im Falle Tafel VI, 1 nur eine 315fache Vergrößerung vorgelegen, so gibt Tafel VI, 2 die Verhältnisse wieder, wie sie bei Benutzung von Traubenzuckerlösung sich dem Beobachter bei einer 1700fachen Vergrößerung darbieten. Die hier gezeichnete Zelle entstammte diesmal nicht der Epidermis der Zwiebelschuppe, sondern der eines grünen Sprosses von Allium Cepa. Alle Erscheinungen konnten an den Schuppen sowohl, wie an den Sprossen stets gleich deutlich beobachtet werden. Das Bild VI, 2 bringt im wesentlichen nichts Neues; das in Figur 1, Tafel VI bereits Gebotene tritt nur klarer hervor.

Zum Vergleich mit den Figuren 1 und 2, Tafel VI soll die mikrophotographische Aufnahme Tafel V, 6 dienen. Auf die Epidermiszellen der Schuppen hatte eine 10prozentige Traubenzuckerlösung plasmolysierend eingewirkt. Bevor das Präparat photographiert wurde, war es mit Eosin gefärbt worden. Abweichungen von dem bisher Geschilderten läßt dieses Bild nicht erkennen, es bestätigt vielmehr durchaus die gemachten Angaben. Das protoplasmatische Netzwerk weist auch hier Stellen auf, an denen es kleine flächenförmig ausgebreitete Plasmareste maschenartig umschließt. Bei c geht das Netzwerk direkt in einen Teil des kontrahierten Protoplasten über. Die Hauptmasse des Plasmas ist von der Zellwand zurückgewichen und liegt als unscharfer dunkler Streifen im Lumen der Zelle. Im Präparate selbst stand der kontrahierte Plasmaleib durch zahlreiche feine Plasmafäden mit dem der Zellwand eng anliegenden Netzwerke in Verbindung. Die Fäden gingen dabei direkt in das Netzwerk über. Besonders häufig sind es Verzweigungsstellen, sowie die maschenartig umschlossenen größeren und kleineren Plasmareste im Netzwerke, an denen die Plasmafäden ansetzen. In der Mikrophotographie ist von den ins Innere der Zelle führenden Fäden nichts zu erkennen, da auf die obere Flächenansicht der Zelle eingestellt werden mußte, um das der Zellwand eng anliegende protoplasmatische Netzwerk deutlich zur An-

schauung bringen zu können. Aus dem gleichen Grunde erscheinen in dieser sowie in den übrigen Mikrophotographien die Zellwände nicht scharf umrissen.

So stellt sich also die Erscheinung der Netzstruktur als vollendete Tatsache. Es soll nunmehr versucht werden, den Augenblick der Entstehung, sowie die weitere Entwickelung dieser Erscheinung genau zu verfolgen. Der Weg, welcher hier wiederum am sichersten zum Ziele führen konnte, war der der direkten kontinuierlichen mikroskopischen Beobachtung des allmählich eingeleiteten plasmolytischen Vorganges bei gleichzeitiger Einstellung auf die obere bzw. untere Flächenansicht der Zelle.

Läßt man zu dem Untersuchungsmateriale, das sich in Wasser unter dem Deckglase befindet, langsam eine verdünnte Traubenzucker- oder Kalisalpeterlösung zufließen, so setzt nach einiger Zeit die Plasmolyse in der früher eingehend geschilderten Weise unter den Augen des Beobachters ein. Das Plasma wird gedehnt und an verschiedenen Stellen zerrissen. An einigen Punkten zieht sich die Hauptplasmamasse unregelmäßig von der Zellwand ab, auf dieser größere und kleinere Plasmaansammlungen zurücklassend. Schon vom ersten Anbeginn der Trennung zwischen Plasma und Zellwand kann man das Auftreten von Plasmafäden beobachten. In derselben Weise zeigen sich an den Stellen, an denen die Hauptmasse des Plasmas im Zurückweichen begriffen ist, die ersten Anzeichen von Netzstruktur auf der Zellwand. Fadenbildung und Netzwerk nehmen entsprechend dem weiteren Fortschreiten der plasmolytischen Kontraktion immer mehr an Ausdehnung zu und liefern schließlich die uns bereits bekannten Bilder.

Die Bildung des Netzwerkes läßt sich fast regelmäßig schon in den allerersten Stadien der beginnenden Plasmolyse feststellen. Durch Färbung, die sich bei den Epidermiszellen von Allium Cepa infolge des leichten Eindringens und der intensiven Färbkraft des Eosins besonders einfach gestaltet, wird die Beobachtung sehr erleichtert. Es gelingt jedoch stets, die Netzstruktur auch ohne Anwendung von Fixierungs- und Färbemitteln zu Gesicht zu bekommen. Die Art des Plasmolytikums (Traubenzucker, Kalisalpeter) ist dabei für das Zustandekommen der Netzstruktur ohne Belang. Selbst verdünnte Lösungen, die eben plasmolytische Kontraktionserscheinungen hervorrufen, liefern Bilder, die sich von denen vorgeschrittener Stadien der Plasmolyse in nichts unterscheiden. Noch einmal sei daher hervorgehoben, daß ausschließlich und allein die langsame Einwirkung eines plasmolysierenden Agens erforderlich ist, um die geschilderten Erscheinungen unter den Augen des Beobachters entstehen zu lassen.

Abgesehen von den größeren und kleineren Plasmaansammlungen,

die sich mit großer Regelmäßigkeit in dem Netzwerkverbande vorfinden, lassen besonders die stärkeren Stränge dieses Netzwerkes, sowie die Knoten- und Verzweigungsstellen oft Einschlüsse erkennen, die nur der körnerführenden Schicht des Plasmas entstammen können. Dieser Umstand, sowie der Verlauf der ersten Phasen des plasmolytischen Prozesses machen es sehr wahrscheinlich, daß Hyalo- und Körnerplasma auch an der Bildung des Netzwerkes in gleicher Weise teilnehmen, wie das für die Plasmafäden als erwiesen gelten muß.

b. Zerfall.

Im ersten Teile der vorliegenden Untersuchungen war unter anderem auch auf die protoplasmatischen Zerfallserscheinungen der Fäden, welche unter dem Einflusse plasmolysierender Lösungen zwischen Zellwand und sich kontrahierendem Protoplasten ausgezogen werden, eingegangen worden. Der Beschreibung dieser Erscheinung wurde als Erläuterung Figur 4, Tafel V beigegeben. Zur Zeit der Anfertigung dieser Mikrophotographie war noch nichts von einer durch die Plasmolyse hervorgerufenen protoplasmatischen Zellwandnetzstruktur bekannt. Der in dem Bilde wiedergegebene Vorgang mußte daher ausschließlich als Zerfallserscheinung der Plasmafäden gedeutet werden. Es konnte das um so eher geschehen, als sich die Fäden beim Zerfall vollkommen in der Weise verhalten, wie es diese Photographie veranschaulicht. Die weiteren Untersuchungen haben nun gelehrt, daß bei plasmolytischen Kontraktionserscheinungen nicht nur Plasmafäden zwischen dem sich kontrahierenden Plasmaleibe und der Zellwand entstehen, sondern daß gleichzeitig stets ein der Zellwand eng anliegendes protoplasmatisches Netzwerk an den Stellen in die Erscheinung tritt, an denen sich der Protoplast von der Zellwand zurückzieht. Der Zerfall dieses Netzwerkes vollzieht sich, wie zahlreiche Beobachtungen übereinstimmend ergeben haben, genau in der Form, wie es für die analogen Vorgänge bei der Behandlung der Plasmafäden angegeben worden ist. Auch hier zeigt sich wieder die spindelförmige perlenschnurartige Kontraktion, aus der schließlich die Bildung kleinerer und größerer Plasmatröpfchen resultiert. Dieser Umstand wird es erklären, daß bei der Beurteilung der Mikrophotographie Figur 4, Tafel V ein Versehen unterlaufen konnte. Wie man beim Vergleiche mit Figur 3 einerseits und Figur 6 andererseits sofort erkennen wird, stellt Figur 4 nicht die Zerfallserscheinungen der Plasmafäden, sondern diejenigen des Netzwerkes dar. Hierfür spricht einmal die geringe Schärfe der im Bilde sichtbaren Zellwände, die stets einen Anhalt dafür bietet, ob eine Aufnahme der oberen bzw. unteren Flächenansicht der Zelle oder dem Lumen derselben entstammt. Andererseits deutet die ganze Anordnung der Zerfallsreste

darauf hin, das Bild als eine Wiedergabe des Zerfalls des Netzwerkes anzusprechen. Dieser erst nachträglich erkannte Irrtum ist jedoch ohne jegliche weitere Bedeutung, da sich, wie schon betont, nicht die geringsten Unterschiede geltend machen in den Zerfallserscheinungen der Plasmafäden und des Netzwerkes. Aus diesem Grunde ist auch die in Frage stehende Mikrophotographie ohne weiteres wiedergegeben worden, um zu veranschaulichen, wie der Prozeß des Zerfalls sich bei den Plasmafäden ausnimmt. Um einen Beleg für die Zerfallserscheinungen des protoplasmatischen Netzwerkes bieten zu können, ist es nach alledem an dieser Stelle nur notwendig, auf Figur 4, Tafel V zu verweisen.

3. Die Zellwandnetzstruktur bei weiteren Untersuchungsobjekten.

Die Entstehung, sowie der Zerfall des protoplasmatischen Netzwerkes, das in den Zellen von Allium Cepa unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Agentien beim Zurückweichen des Protoplasten von der Zellwand auf dieser zutage tritt, findet in der Art und Weise, wie die Kontraktion von Anbeginn an in ihren einzelnen Phasen vor sich geht, seine Erklärung. Nachdem erst einmal die Existenz sowie die Entstehung des Netzwerkes aus Hyalo- und Körnerplasma an Allium Cepa sicher erwiesen war, war es ein leichtes, auch an anderen Objekten die nämliche Erscheinung festzustellen. So gibt Tafel V, 7 die obere Flächenansicht einer Zelle der Epidermis von Tradescantia discolor wieder. Als Plasmolyt hatte Traubenzuckerlösung gedient. Das Untersuchungsmaterial war sodann mit sehr verdünnter Osmiumchromessigsäure, in der im ersten Teile dieser Arbeit angegebenen Weise, fixiert und hierauf mit Eosin gefärbt worden. Alle Epidermiszellen zeigten sowohl in der oberen Flächenansicht, d. i. in der Zellfläche, die frei an das Außenmedium (Luft) grenzt, sowie in der unteren Flächenansicht, d. i. in der Zellfläche, die vor der Präparation mit dem darunter liegenden Zellgewebe in Verbindung gestanden hatte, die gleiche Erscheinung. Tradescantia läßt besonders schön und leicht, wie dies ja auch aus Tafel V, 7 ersichtlich ist, die direkte Entstehung des Netzwerkes aus dem sich kontrahierenden Plasma heraus erkennen. Es war nie möglich, eine Verschiedenheit zwischen Hyalo- und Körnerplasma bezüglich ihrer Beteiligung an dem Zustandekommen der Netzstruktur zu ermitteln.

Das soeben im Hinblick auf Tradescantia Gesagte gilt auch für die weiteren Objekte, an denen die an Allium Cepa gefundenen Ergebnisse nachgeprüft wurden. Die gelben länglichen Kelchblätter von Eranthis hiemalis, die Blätter der weißen Blütenhüllen von Galanthus nivalis, desgleichen die von Leucojum vernum, sowie die Epidermis der grünen Blätter dieser Pflanzen boten nichts Neues. Ferner wiesen

die Rhizoide des Farnprothalliums von Dryopteris aculeata nach Plasmolyse mit 5 bzw. 10prozentiger Traubenzuckerlösung die typische Netzstruktur auf. Es ist dies besonders interessant, da wir in den Rhizoiden einzellige Gebilde vor uns haben, Zellen, welche an allen Seiten frei an das sie umgebende Medium grenzen, ohne von Nachbarzellen eingeschlossen zu sein. Plasmafäden und netzartiger Wandbelag, die in den plasmolysierten Rhizoiden nach Fixierung und Färbung mit Eosin deutlich in die Erscheinung treten, sind den an Allium Cepa eingehend geschilderten Bildungen analog. Es sei auch hier nochmals erwähnt, daß Plasmafäden sowohl, wie Netzwerk bereits vor der Fixierung und Färbung, also gleich während und nach der Plasmolyse, direkt sichtbar waren.

Der Versuch, auch an den grünen Teilen des Prothalliums von Dryopteris aculeata die Netzstruktur zu erzielen, ist nicht geglückt. Es gelang nur, bei Einwirkung von Traubenzuckerlösungen verschiedener Konzentration (5; 10; 20 Prozent) das Auftreten sehr feiner Plasmafäden zu beobachten. Diese Fäden werden mit größter Regelmäßigkeit in sämtlichen Zellen, also auch in den Randzellen, bei Plasmolyse ausgezogen. Über das Vorhandensein eines netzartigen Wandbelages kann z. Z. nichts Sicheres ausgesagt werden, doch ist die Wahrscheinlichkeit sehr groß, daß sich auch hier das Auftreten der Netzstruktur wird feststellen lassen. Das bei der Plasmolyse entstehende protoplasmatische Netzwerk ist bei Dryopteris offenbar viel zarter und empfindlicher als bei Allium. Zu dieser Annahme berechtigt einmal der Umstand, daß sich bei hoher Einstellung auf die obere Flächenansicht der Zelle häufig unregelmäßig verteilte Plasmatröpfchen an der Zellwand erkennen lassen. Andererseits haben wir ja bereits gesehen, daß die Rhizoide dieses Farn-Prothalliums im Vergleich zu Allium Cepa keine Abweichungen zeigen in ihrem Verhalten gegenüber plasmolysierend wirkenden Agentien.

Ähnliche Schwierigkeiten, wie sie bei den grünen Teilen des Prothalliums von Dryopteris aculeata zutage traten, stellten sich der Untersuchung bei folgenden Objekten hindernd in den Weg: Vallisneria spiralis, Mnium affine, Spirogyra. Für die beiden erstgenannten Objekte hat sich nach anfangs vergeblichen Bemühungen schließlich doch die Entstehung und weitere Ausbildung des protoplasmatischen Netzwerkes sicher feststellen lassen. Freilich konnte dasselbe meist nur während des plasmolytischen Kontraktionsvorganges selbst oder kurze Zeit nach vollendeter Plasmolyse beobachtet werden. — Die geringe Konsistenz des Plasmas scheint es zu bedingen, daß hier die Erscheinung selten in der schön durchgebildeten vollendeten Form der Beobachtung zugänglich ist, wie bei den anderen untersuchten Objekten. Bei Vallisneria und Mnium folgen die protoplasmatischen Zerfalls-

erscheinungen der Entstehung des Netzwerkes und der Plasmafäden hart auf dem Fuße. Auch die Plasmafäden sind nämlich, so überaus zahlreich sie hier oft auftreten, bei ihrer großen Feinheit einem sehr frühzeitigen Zerfall unterworfen. Infolgedessen weisen die kontrahierten Protoplasten oft schon nach kürzester Zeit eine vollkommen abgerundete Oberfläche auf. Trotzalledem findet man gerade bei Vallisneria und Mnium nach erfolgter Plasmolyse fast regelmäßig auf den Zellwänden größere und kleinere Plasmaansammlungen, von denen erstere meist Chlorophyllkörner einschließen. Die Form und Anordnung der kleineren Plasmareste läßt sehr wohl den Schluß zu, daß sie ihre Entstehung dem protoplasmatischen Netzwerke verdanken. Dieser Umstand, sowie die Tatsache, daß es bei allen Schwierigkeiten häufig möglich war, das Vorhandensein des Netzwerkes sicher zu beobachten, lehren, daß wir es hier keineswegs mit einer Ausnahme zu tun haben.

Demgegenüber ist es bei keiner einzigen der untersuchten Spirogyren jemals gelungen, auch nur Spuren eines protoplasmatischen Netzwerkes zu beobachten. Die ganze Reihe der zahlreichen diesbezüglichen Versuche zeitigte das gleiche negative Resultat. Es mag das zum Teil darauf zurückzuführen sein, daß sich die Spirogyren Fixierungen schwer zugänglich, direkten Färbungen überhaupt unzugänglich erweisen. Ob für den negativen Ausfall der Untersuchungen allein die große Empfindlichkeit des Materials sowie die Konsistenz des Plasmas, oder ob andere Faktoren verantwortlich zu machen sind, das wage ich nicht zu entscheiden. Immerhin ist es höchst wahrscheinlich, daß bei der endgültigen Beantwortung dieser Frage die Empfindlichkeit sowie die Konsistenz ausschlaggebend sein werden. Haben sich doch hinsichtlich des Kontraktionsvorganges selbst, wie im ersten Teile dieser Arbeit gezeigt worden ist, keinerlei Abweichungen von den analogen Erscheinungen bei den übrigen untersuchten Objekten ergeben. Die Art der einzelnen Phasen dieses Kontraktionsvorganges, sowie nicht zum wenigsten die Ausbildung der überaus zahlreichen sehr feinen Plasmafäden zwischen Zellwand und sich zusammenziehenden Protoplasten, geben doch gewiß schon berechtigten Grund zu der Annahme, daß auch hier bei Spirogyra ähnliche Gebilde für das Haftenbleiben der Plasmafäden in Betracht kommen werden wie bei den übrigen Objekten.

Doch, wie dem auch sein mag, sicher ist, daß die Entstehung und Ausbildung des protoplasmatischen Netzwerkes nicht auf Zellen beschränkt ist, die einem geschlossenen Zellverbande angehören. So haben wir bereits gesehen, daß in den Rhizoidzellen des Farnprothalliums von Dryopteris aculeata das Netzwerk bei Plasmolyse ausgebildet wird.

Daß auch in Haarzellen bei Plasmolyse Netzstruktur und Fadenbildung sehr schön hervortreten, dafür gibt Tafel VI, 3 einen guten Beleg. Das Zellstück entstammt einem Blattstielhaare von Cucurbita Pepo. Es handelt sich um die erste langgestreckte große Zelle über der Haarbasis. Als Plasmolytikum war Traubenzuckerlösung zur Anwendung gekommen. Die Fixierung hatte ich mit sehr verdünnter Osmiumchromessigsäure, die Färbung mit Eosin in Traubenzuckerlösung vorgenommen. Gerade bei den Haarzellen von Cucurbita Pepo war mit größter Schärfe zu beobachten, daß es nicht Hyaloplasma ist, welches das Netz- und Fadenwerk aufbaut, denn es war — wie das auch in der Zeichnung zum Ausdrucke kommt — zwischen Zellwand und Körnerplasma gar keine differenzierte Hyaloplasmaschicht wahrnehmbar. Der in gleichmäßiger Strömung befindliche körnerführende Teil des Plasmas bewegte sich vielmehr hart die Zellwand entlang. Andererseits blieb eben dieser körnige Teil des Plasmas bei der Kontraktion in netzartiger Anordnung an der Zellwand zurück. Schließlich findet man in den stärkeren Strängen des protoplasmatischen Wandbelages sehr oft Chlorophyllkörner eingeschlossen.

An dieser Stelle verdient noch eine Angabe Küsters, die sich in seiner Mitteilung: „Eine Methode zur Gewinnung abnorm großer Protoplasten" findet, berücksichtigt zu werden. Es heißt dort (S. 353): „Läßt man zu Präparaten, in welchen angeschnittene Zellen mit intakten (plasmolysierten) Protoplasten vorliegen, langsam Wasser zutreten, so dehnen sich die Protoplasten in bekannter Weise aus und strecken sich zu dem Zellwandgehäuse hervor. Bei verschiedenen Pflanzen verhält sich der Inhalt der Zellen verschieden: bei manchen schlüpfen die Plasmaleiber leicht und ohne Unterbrechung ihrer Vorwärtsbewegung aus, etwa wie große Schwärmsporen aus dem geöffneten Zoosporangium (z. B. die Zellen der Epidermis von Tulpenzwiebelschalen, morphologische Unterseite!) — bei anderen werden sie durch mehr oder minder zahlreiche dünne Plasmafäden an der Zellhaut und im Inneren der angeschnittenen Zellen zurückgehalten (z. B. bei entsprechenden Präparaten von Allium Cepa; . . . . ." Küster scheint demnach Plasmafäden in den plasmolysierten Zellen der Tulpenzwiebelschalen nicht wahrgenommen zu haben. Daß nun dieses Objekt in seinen Kontraktionserscheinungen von den in der vorliegenden Arbeit geschilderten Vorgängen in keiner Weise abweicht, war anzunehmen. Eine genaue Untersuchung hat die Richtigkeit dieser Annahme vollauf bestätigt.

Als weitere Objekte, an welchen sich das protoplasmatische Netzwerk mehr oder weniger leicht nachweisen ließ, wären hier noch zu nennen: Hyacinthus orientalis, Tradescantia virginica, Iris germanica, Agave americana, Pontederia crassipes, Symphoricarpus

racemosus, Zea Mays. Betreffs der Teile, welche von diesen Objekten bei der Untersuchung zur Verwendung kamen, sei auf das Kapitel „Untersuchungsmaterial“ S. 154 dieser Arbeit verwiesen.

4. Gründe für das netzartige Haftenbleiben von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse.

Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, daß sich bei plasmolytischer Kontraktion ein protoplasmatisches Netzwerk auf der Innenseite der Zellwand bildet. Dieses Netzwerk ist aus Hyaloplasma und Körnerplasma aufgebaut. Das Haftenbleiben der bei der Plasmolyse entstehenden Fäden ist, sofern nicht Plasmaverbindungen zwischen benachbarten Zellen in Betracht kommen, durch dieses Netzwerk bedingt. Es fragt sich nun weiter, wodurch das Netzwerk selbst haftet. Diese Frage durch direkte mikroskopische Beobachtung zu lösen, ist von mir vergeblich versucht worden.

Eine Möglichkeit, die Verhältnisse zu klären, konnte vielleicht die Aufhebung der Plasmolyse bieten. Ich hoffte, durch die Beobachtung des Vorganges der durch langsamen Zusatz von Wasser rückgängig gemachten Plasmolyse — ein Prozeß, den wir kurz als „Deplasmolyse“ bezeichnen wollen —, sowie durch eine nach erfolgter Deplasmolyse eingeleitete erneute Plasmolyse Aufklärung über den Grund des netzartigen Haftenbleibens von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse wie überhaupt über die Beziehungen zwischen Plasma und Zellwand zu erlangen. Sind es doch, wie schon Chodat und Boubier hervorhoben, im wesentlichen zwei Möglichkeiten, durch welche die plasmolytischen Kontraktionserscheinungen hervorgerufen werden könnten. Einmal könnte die Ursache für das Haftenbleiben von Plasma in einer innigen Wechselbeziehung zwischen Plasma und Zellwand, in einer gegenseitigen Verwachsung beider, zu suchen sein. Andererseits könnte die in Frage stehende Erscheinung aber auch durch die Konsistenz des Plasmas ihre Erklärung finden. Dies würde eine starke Viskosität nicht nur der äußersten Plasmaschicht, sondern der gesamten Plasmamasse zur Voraussetzung haben, da die bloße Erscheinung der Adhäsion des Plasmas an der Membran wohl kaum als Erklärungsursache hinreichen würde. Die Deplasmolyse mit anschließender erneuter Plasmolyse sollte eine Handhabe bieten, in dieser Frage eine Entscheidung herbeizuführen.

Die folgenden Untersuchungen sind wiederum zunächst an Epidermispräparaten von Allium Cepa angestellt worden. Hierauf erfolgte die Nachprüfung der Ergebnisse an einigen weiteren Objekten.

a. Die Deplasmolyse.

Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Allium Cepa wurden der Plasmolyse unterworfen. Um die schädigende Wirkung des Kalisalpeters bei diesen Untersuchungen von vornherein vollkommen auszuschalten, wurde ausschließlich mit Traubenzuckerlösungen gearbeitet. Die Plasmolyse wurde soweit fortgesetzt, bis ein möglichst allseitiges Zurückweichen des Protoplasten von der Zellwand erzielt war. Um nun einen Einblick in die Beziehungen zwischen Plasma und Zellwand zu erhalten, war es zunächst erforderlich, alle zwischen dem kontrahierten Protoplasten und der Membran bestehenden Verbindungen zu beseitigen. Von einer gewaltsamen Zerstörung der Plasmafäden, etwa auf mechanischem Wege, mußte natürlich abgesehen werden, da ja durch einen derartigen Eingriff die ganze Zelle stark geschädigt worden wäre. Zudem bedurfte es überhaupt keiner äußeren Veranlassung, da — wie wir gesehen haben — der Zerfall der Plasmafäden und des Netzwerkes bald nach vollendeter Plasmolyse von selbst einsetzt. Es war daher nur notwendig, das Ende dieser Zerfallserscheinungen abzuwarten, um dann die Plasmolyse rückgängig zu machen. Anfangs wurde denn auch in der Weise verfahren, daß mit der Deplasmolyse erst begonnen wurde, nachdem sämtliche Verbindungen zwischen dem kontrahierten Plasmaleibe und der Zellwand durch den Zerfall zerstört worden waren. Da sich jedoch die Plasmafäden zum Teil recht lange erhalten, mußte die Deplasmolyse nur allzuoft beträchtlich hinausgeschoben werden. Häufig waren selbst nach 8—12 Stunden noch Plasmafäden vorhanden. Nun stellte sich aber heraus, daß der Versuch, die Plasmolyse dann noch rückgängig zu machen, mißlang. Die kontrahierten Protoplasten vergrößerten zwar ihr Volumen bei allmählichem Zusatze von Wasser, doch platzten sie stets, noch ehe sie die Zellwand überall vollkommen erreicht hatten. Demnach mußten an dem kontrahierten Protoplasten Veränderungen vor sich gegangen sein, welche die Untersuchungsmethode in der bisherigen Form undurchführbar werden ließen. Auf diese Veränderungen wird im folgenden Abschnitte noch genauer einzugehen sein.

War es somit nicht möglich gewesen, auf dem eingeschlagenen Wege zum Ziele zu gelangen, so sollten dieselben Versuche doch den Ausgangspunkt für die weiteren Untersuchungen bilden. Es zeigte sich nämlich, daß bei dem Bestreben, die Plasmolyse rückgängig zu machen zu einem Zeitpunkte, wo die Plasmafäden noch nicht dem Zerfall anheimgefallen waren, Plasmafäden und Netzwerk durch den Zusatz von Wasser sofort in Zerfall übergingen. Läßt man zu plasmolysierten Zellen, in denen Plasmafäden und Netzwerk in schönster Form ausgebildet sind, langsam Wasser zufließen, so werden dadurch diese Bildungen meist zerstört, bevor noch eine durch die Konzen-

trationserniedrigung bedingte merkliche Ausdehnung des kontrahierten Protoplasten eingesetzt hat. Das Protoplasma der Fäden und des Netzwerkes zieht sich dabei zu größeren und kleineren ganz unregelmäßig verteilten Plasmatropfen zusammen. An diesen Zerfallsprodukten kann man häufig weit deutlicher die mikrosomenartigen Einschlüsse erkennen, als das bei der feinen Verteilung an den Plasmafäden und dem Netzwerke selbst möglich ist. Erreicht der sich ausdehnende Protoplast die Zellwand, dann vereinigt er sich wieder mit diesen Plasmaansammlungen. Die Plasmatropfen werden von der Hauptmasse resorbiert. Ist zwischen der ersten Plasmolyse und der Deplasmolyse einige Zeit verstrichen, so kann man mitunter beobachten, wie einzelne der Plasmatropfen von dem Protoplasten nicht wieder aufgenommen werden, während gleichzeitig andere mit ihm verschmelzen. Solche Plasmatropfen werden dann bei der Berührung mit dem Protoplasten an der Zellwand plattgedrückt, oder der Protoplast wird an der betreffenden Stelle eingedellt. Ob es sich bei diesem Vorgange um bereits abgestorbene Plasmatropfen handelt, ist schwer zu entscheiden, da durch Färbung mit Eosin stets auch das lebende Plasma in Mitleidenschaft gezogen wird. Dieser Punkt ist jedoch für die Beantwortung der hier aufgeworfenen Frage ohne Bedeutung. Dagegen ist es von großer Wichtigkeit, daß durch die langsame Anwendung der Deplasmolyse die Verbindungen zwischen der Zellwand und dem sich ausdehnenden Protoplasten zerstört werden, noch lange bevor der letztere die Membran wieder erreicht hat.

Hat sich der vorher kontrahierte Plasmaleib wieder allseitig der Zellwand angelegt, dann kann von neuem mit der Plasmolyse begonnen werden. Hierbei zeigt sich folgendes: Bei der Einwirkung von Traubenzuckerlösung zieht sich der Protoplast von der Zellwand zurück, ohne daß dabei Plasmafäden ausgezogen werden, oder ein der Zellwand eng anliegendes Netzwerk ausgebildet wird. Allerdings bekommt man mitunter einige Plasmafäden zu Gesicht, denen aber viel eher die Bezeichnung Plasmastränge zukommt, da sie meist sehr dick sind. Diese Stränge treten zudem nur in geringer Zahl auf. Eigentliche Plasmafäden, wie sie bei erstmaliger Plasmolyse stets überaus zahlreich und bis zur größten Feinheit ausgebildet werden, entstehen bei erneuter Plasmolyse nicht. Trotzdem zieht sich bei der zweitmaligen Plasmolyse der Protoplast durchaus nicht gleichmäßig von der Zellwand zurück. Die Kontraktionserscheinungen gleichen vielmehr sehr stark den bei erstmaliger Plasmolyse beschriebenen Vorgängen. Das Plasma hebt sich zunächst an den verschiedensten Stellen linsenförmig von der Zellwand ab. Allmählich löst sich der Protoplast auf größeren Strecken von der Membran los, während er an anderen Stellen noch mit derselben verbunden bleibt. Bei der Unregelmäßigkeit des Los-

lösungsvorganges werden nicht selten größere und kleinere Plasmaportionen auf der Zellwand zurückgelassen, die dann häufig durch Plasmabrücken auch weiterhin mit der sich kontrahierenden Hauptmasse zusammenhängen.

Die Vorgänge und Erscheinungen der nach erfolgter Deplasmolyse erneut eingeleiteten Plasmolyse vermögen demnach die aufgeworfene Frage nach dem Haftenbleiben von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse nicht zu entscheiden. Nach den bisherigen Beobachtungen könnte man zwar annehmen, daß in Zellen, die noch keinem plasmolysierend wirkenden Agens ausgesetzt gewesen sind, eine innige Wechselbeziehung zwischen dem Protoplasten und der Zellwand besteht, daß vermutlich eine gegenseitige Verwachsung beider Komponenten vorliegt. Es spricht jedoch auch nichts gegen den Versuch, das Haftenbleiben von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse ausschließlich auf seine Konsistenz (Viskosität) und auf Adhäsion zurückzuführen. Gegen die Berechtigung dieser zweiten Annahme können wohl kaum die Verschiedenheiten, die sich zwischen den bei erstmaliger Plasmolyse auftretenden Erscheinungen und denen bei erneuter Plasmolyse nach voraufgegangener Deplasmolyse ergeben haben, als stichhaltige Gründe ins Feld geführt werden. Denn daß die Erscheinungen bei der ersten und zweiten Plasmolyse nicht vollkommen identisch sein würden, war zu erwarten, da der sich bei der erstmaligen Plasmolyse abspielende Zerreißungsvorgang, sowie das Absterben oberflächlicher Partien zweifellos eine Konsistenzveränderung der Plasmaoberfläche bedingt, die wohl zur Erklärung der geringeren Klebrigkeit bei der zweitmaligen Plasmolyse ausreichen würde.

Der Versuch, an Spirogyren die plasmolytische Kontraktion rückgängig zu machen, um das Material dann einer erneuten Plasmolyse unterziehen zu können, mißglückte, da diese Algen kaum die Deplasmolyse überstanden, geschweige denn, daß es möglich gewesen wäre, sie einer nochmaligen Plasmolyse zu unterziehen. Dagegen erwiesen sich die Zwischenlamellen der Blatt- und Blütenstiele von Pontederia für diese Versuche als geeignet. Die Untersuchungsergebnisse an Pontederia zeitigten keine Abweichungen von denen bei Allium Cepa.

b. Die Zellwandneubildung an plasmolysierten Protoplasten von Allium Cepa.

Im vorigen Abschnitte war bei dem Bestreben, die Plasmolyse durch langsamen Zusatz von Wasser rückgängig zu machen, bereits angedeutet worden, daß nach 8—12 Stunden die Deplasmolyse nicht mehr vollständig durchführbar war. Es lag nahe, einmal den hierfür verantwortlich zu machenden Ursachen nachzugehen. Höchst wahr-

scheinlich war der Grund in Zellhautneubildung an der Oberfläche des kontrahierten Protoplasten zu suchen. Um diese Frage zu lösen, wurden Stücke der Epidermis von Allium Cepa-Schuppen in 10 prozentige Traubenzuckerlösung, die sich in einem gut verschließbaren Gläschen befand, gelegt. Nach 24 Stunden wurden die plasmolysierten Zellen unter dem Mikroskope betrachtet. Die kontrahierten Plasmaleiber hatten in den einzelnen Zellen mehr oder weniger Kugelform angenommen. Trotzdem waren die Protoplasten den Längswänden der Zellen noch fest angelagert. Netzstruktur und Plasmafäden waren jedoch vollkommen verschwunden. Dieses Material wurde nunmehr der Plasmolyse mit konzentrierter Kalisalpeterlösung unterzogen. Die erneute Kontraktion hatte die sofortige Entstehung des bekannten protoplasmatischen Netzwerkes an den Stellen der Innenseite der Zellwand zur Folge, an welchen dieselbe vor der Plasmolyse mit Kalisalpeter noch mit dem Protoplasten in Zusammenhang gestanden hatte. Gleichzeitig konnte man beobachten, wie bei der Kontraktion Plasmafäden ausgezogen wurden. Alle diese Fäden mündeten im Netzwerke und führten demgemäß nur nach den Stellen der Zellwände, denen das Plasma vor der Plasmolyse mit Kalisalpeter angelegen hatte. — In Figur 8, Tafel V war, als die Aufnahme gemacht wurde, das protoplasmatische Netzwerk bereits stark im Zerfall begriffen. Immerhin kann man an den Spuren des Netzwerkes noch deutlich die Stellen erkennen, bis zu denen der Plasmaleib vor der zweiten Kontraktion mit der Zellwand in Verbindung gestanden hatte.

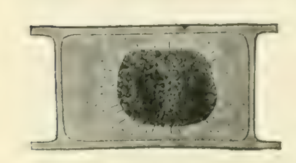
Wird dagegen Zellmaterial, das 2 mal 24 Stunden in 10 prozentiger Traubenzuckerlösung gelegen hat, mit konzentrierter Kalisalpeterlösung plasmolysiert, so bekommt man zwar wiederum Netzwerk und Plasmafäden zu Gesicht, diesmal endigen jedoch nicht alle Plasmafäden nur an der alten Zellwand, wie es die Untersuchung des Materials nach 1 mal 24 Stunden ergeben hatte, sondern man kann deutlich feststellen, daß jetzt auch zahlreiche Fäden den Zellwänden parallel verlaufen bis zu einer feinen Lamelle — der Grenzschicht — die genau die Stelle kennzeichnet, bis zu der sich der Plasmaleib vor der erneuten Plasmolyse mit Kalisalpeter erstreckt hatte. Besonders scharf tritt diese Erscheinung in Tafel V, 9 zutage. Das Material hatte in diesem Falle 4 mal 24 Stunden in 10 prozentiger Traubenzuckerlösung verweilt. Die Plasmolyse mit konzentrierter Kalisalpeterlösung lieferte dann das reproduzierte Bild. Das kontrahierte Zellinnere hatte nach der ersten Plasmolyse die Kugelform nicht erreicht. Unter der Einwirkung der konzentrierten Kalisalpeterlösung verringerte sich das Volumen noch um ein Beträchtliches. Durch die erneute Kontraktion wurden zahlreiche straff gespannte Plasmafäden zwischen der Grenzschicht und dem Plasmaleibe ausgezogen.

Auch hier befindet sich diese Grenzschicht stets an der Stelle, bis zu welcher sich das Plasma nach der ersten Plasmolyse zurückgezogen hat. Die Grenzschicht wies im Präparate viele größere und kleinere mikrosomenartige Gebilde auf; es kommt dies auch in der Mikrophotographie zum Ausdruck. Ferner läßt dieselbe an der Schärfe der Zellwände deutlich erkennen, daß diese Aufnahme dem Lumen der Zelle — etwa der Mittelebene — entstammt im Gegensatze zu der Mikrophotographie Tafel V, 8. Hier deuten die unscharfen Konturen der Zellwände von vornherein darauf hin, daß wir eine Wiedergabe der oberen Zellwandfläche vor uns haben, daß also tatsächlich das sichtbare Netzwerk der Innenseite der Membran eng anliegt.

Das, was bisher kurz als Grenzschicht bezeichnet worden ist, ist zweifellos neu gebildete Zellhaut. Aus dem oben Mitgeteilten geht klar hervor: Die Zellhaut hat sich nach der mit Traubenzuckerlösung vollzogenen ersten Plasmolyse allmählich gebildet.

Nicht immer ist es erforderlich, bei Allium Cepa einen Zeitraum von 2mal 24 Stunden verstreichen zu lassen, um die Neubildung einer Zellhaut um den kontrahierten Protoplasten konstatieren zu können. In den abnorm warmen Sommermonaten des Jahres 1911 konnten nach 24 Stunden, ja selbst schon nach 16—18 Stunden, an den Epidermispräparaten, die sich in 10prozentiger Traubenzuckerlösung befunden hatten, bei erneuter Plasmolyse mit konzentrierter Kalisalpeterlösung zarte Zellhautneubildungen wahrgenommen werden. Inwieweit die Zellhautneubildung von der Konzentration sowie von der Temperatur des Plasmolytikums abhängt, ist nicht weiter untersucht worden.

Über Zellhautneubildung ist bereits von verschiedenen Forschern gearbeitet worden. So schreibt Klebs (1886—1888) über seine Ergebnisse an Zygnema-Zellen (S. 527): „Bei der ersten Plasmolyse von Zygnema-Zellen in konzentrierter Zuckerlösung sind sehr zahlreiche zarte Pseudopodien vorhanden, welche bis zur Zellwand gehen. Schon nach 24 Stunden sind sie verschwunden, augenscheinlich eingezogen, weil keine Spur von Plasmateilchen oder Körnchen sich später vorfindet; bisweilen allerdings können die Pseudopodien sich mehrere Tage erhalten. — Wenn man nun auf die vollständig abgerundete Kugel des kontrahierten Protoplasten konzentrierte Salpeterlösung einwirken läßt, so erfolgt eine stärkere Kontraktion und wieder eine Neubildung von Pseudopodien, welche diesmal aber frei endigen (Tafel VI, Fig. 18).“ — Es sei gestattet, an dieser Stelle die von Klebs als Erläuterung beigegebene Fig. 18, Tafel VI zu reproduzieren, da dieselbe durchaus unserer Mikrophotographie Fig. 8, Tafel V entspricht. Freilich dürfte die Angabe dieses Forschers, daß die nach



24 Stunden bei erneuter Kontraktion von ihm beobachteten „Pseudopodien" „diesmal aber frei endigen", den tatsächlichen Verhältnissen nicht ganz entsprechen. Vielleicht ist Klebs, der diese Mitteilung als beiläufige Beobachtung wiedergibt, bei der mikroskopischen Betrachtung die im Anfange ihrer Entstehung äußerst feine Zellhaut entgangen. Wahrscheinlicher ist es jedoch, daß die von ihm beobachteten und in der Fig. 18 abgebildeten „Pseudopodien" ausschließlich an den alten Zellwänden ansetzten. Es würde sich dann um die analoge Erscheinung handeln, die durch unsere Figur 8, Tafel V veranschaulicht werden soll.

Überhaupt scheinen von Klebs Vorgänge bei der plasmolytischen Kontraktion beobachtet worden zu sein, die zu den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit in enger Beziehung stehen. Zu dieser Annahme berechtigen wohl die nachfolgenden kurzen Mitteilungen dieses Autors. „Sehr häufig beobachtet man nach Trennung der neuen Zellwand vom Protoplasten mit Hilfe der Plasmolyse eine sehr deutliche körnige Struktur derselben, die aber möglicherweise auf Plasmakörnchen zurückzuführen ist, die an der Innenseite der Zellhaut festkleben." (S. 508.) An einer anderen Stelle heißt es: „Nur kurz erwähnen will ich, daß es mir an den Blattzellen von Elodea aufgefallen ist, wie nach dreitägigem Aufenthalt in 15 % R-Zucker (Rohrzucker) sich mehrfach durch erneute Plasmolyse ein äußerst zartes Häutchen vom Protoplasten abheben ließ, das nicht homogen wie die spätere Zellhaut war, sondern ohne Anwendung von sonstigen Reagentien ein Netzwerk von feinen Balken und hier und dort auch Körnchen, in anderen Fällen nur letztere zeigte. Noch deutlicher bemerkte ich eine entsprechende Erscheinung bei einigen Blattzellen von Funaria, welche in 20 % R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali neue Zellhaut bzw. mehrere neue Zellhautkappen gebildet hatten, und bei denen bei erneuter Plasmolyse mit Salpeter zum Teil die Hautschicht sich vom übrigen Plasma trennte, als deutlich körnige Schicht der neuen Zellwand anliegend (Tafel VI, Fig. 22)." (S. 512.)

Nach Klebs erscheint die neue Zellhaut in reiner Zuckerlösung als eine dünne, zarte, aber beiderseits scharf begrenzte und stets homogene Schicht. Die Untersuchungen dieser Arbeit legen jedoch die Vermutung nahe, daß die neue Zellhaut allmählich aus den äußersten Schichten des kontrahierten Plasmaleibes entsteht, und daß somit Mikrosomen von Anfang an an ihrer Bildung teilnehmen. Hierfür gibt die direkte mikroskopische Beobachtung den besten Beleg. Zudem war niemals eine Differenzierung zwischen der neugebildeten Zellhaut und den auf dieser bei erneuter Plasmolyse zurückbleibenden netzartig verteilten Plasmaresten wahrzunehmen. Auch gehen, wie aus Fig. 9, Tafel V deutlich zu ersehen ist, die ausgezogenen Plasma-

fäden ohne Unterbrechung in die neu gebildete Zellhaut über. Schließlich fragt es sich, ob man nach so tiefgreifenden Veränderungen, wie sie sich unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Agentien im Protoplasma abspielen, nach erfolgter Plasmolyse überhaupt noch von einer Differenzierung in Hyaloplasma und körnerführendes Plasma sprechen kann, sodaß man einzig und allein dem Hyaloplasma die Beteiligung an dem Aufbau der neu zu bildenden Zellwand zuschreiben könnte.

In seiner Abhandlung „Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse" bringt Küster Untersuchungen, die er über die Neubildung von Zellhaut um kontrahierte Protoplaste angestellt hat. Es gelang ihm, an Präparaten von Allium Cepa-Zellen, die 3 mal 24 Stunden in n-Rohrzucker gelegen hatten, eine sehr feine Membran nachzuweisen. Diese Membran wurde bei aufmerksamer Prüfung an vielen Zellen sichtbar, wenn in ihnen durch Anwendung noch stärkerer Rohrzuckerlösung erneute Kontraktion des Plasmas hervorgerufen wurde. Bei Material, das nur 24 Stunden in n-Rohrzucker gelegen hatte, konnte Küster niemals neu gebildete Häute nachweisen. „Überdies spricht gegen ihr Vorhandensein schon die Beobachtung, daß bei sehr langsamer Beseitigung der plasmolysierenden Flüssigkeit die Protoplasten vielfach ganz regelmäßig an Volumen zunehmen und keinerlei Sprengungen eintreten." (S. 694.) Diese Methode — Deplasmolyse — ist dem Verfahren der erneuten Kontraktion entgegengesetzt. Ihre Anwendung bietet, ebenso wie die wiederholte Plasmolyse, die Möglichkeit zu zeigen, daß die neue Zellhaut erst allmählich nach erfolgter erstmaliger Plasmolyse gebildet wird.

Die Tatsache, daß in Zellen, die sich mit einer neuen Zellhaut umgeben haben, bei Plasmolyse von dem sich kontrahierenden Protoplasten Plasmafäden ausgezogen werden, sowie die Ausbildung des der Zellhaut eng anliegenden plasmatischen Netzwerkes in solchen Zellen, nicht zum wenigsten jedoch die mikroskopische Struktur der neu gebildeten Zellhaut selbst, weisen auf eine innige Wechselbeziehung zwischen Plasma und Zellhaut hin. Berücksichtigt man noch die Art und Weise der Entstehung der Zellhaut direkt aus der kontrahierten Plasmamasse heraus, so kann es nicht wundernehmen, da Plasma und Zellhaut unmerklich ineinander übergehen, daß vermutlich eine innige Verwachsung zwischen beiden vorhanden ist.

Es war bereits früher darauf hingewiesen worden, daß es nicht gelungen ist, an normalen Zellen — d. h. Zellen, die noch keinem plasmolysierenden Agens ausgesetzt gewesen waren, und die somit noch ihre ursprüngliche Zellhaut besaßen — durch direkte mikroskopische Beobachtung die Frage nach dem Grunde des Haftenbleibens von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse zu beantworten

Vergleicht man nun die Vorgänge, wie sie sich unter dem erstmaligen Einflusse plasmolysierend wirkender Lösungen in solchen normalen Zellen abspielen, mit den Kontraktionserscheinungen in Zellen mit einer neu gebildeten Zellhaut, so kann man sich bei der vollkommenen Übereinstimmung wohl kaum der Annahme verschließen, daß auch in normalen Zellen eine innige Wechselbeziehung, eine feste mikroskopisch nicht ohne weiteres wahrnehmbare Verwachsung zwischen Plasma und Zellwand besteht.

D. Schlußbetrachtung.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ist es nicht mehr statthaft, den plasmolytischen Prozeß in der heute üblichen Weise als einen einfachen Loslösungsvorgang des Plasmas von der Zellwand aufzufassen. Trotzdem dürfte durch diese Klärung der Verhältnisse die praktische Verwendbarkeit der plasmolytischen Methode nicht weiter berührt werden. Wenn man auch bei der Messung der Höhe des Turgordruckes in Pflanzenzellen bisher annahm, daß mit dem Beginne der ersten sichtbaren Abhebung der Innendruck gerade aufgehoben sei, so werden die Ergebnisse dieser Druckmessungen doch kaum eine merkliche Änderung erfahren durch die Erkenntnis der Tatsache, daß dem ersten sichtbaren Zurückweichen des Plasmas von der Zellwand bereits eine Dehnung der gesamten Plasmamasse vorausgeht. Diese Dehnungserscheinungen wären ja streng genommen als die ersten Anzeichen der Aufhebung des in den Zellen wirksamen osmotischen Druckes anzusehen. Es ist auch höchst wahrscheinlich, daß bereits dieser Vorgang einen Aufwand von Energie erfordert, der in einer wenn auch nur geringen Steigerung der Konzentration des plasmolysierend wirkenden Außenmediums zur Geltung kommen muß. Das Plasma wird der Dehnung stets einen gewissen Widerstand entgegensetzen, der sich in dem Bestreben geltend macht, den ursprünglichen Zustand beizubehalten und, wenn möglich, in denselben zurückzukehren. Da nun die Werte zur Ermittelung des Turgordruckes mit Hilfe der Vergleichsmethode gewonnen werden, so fallen um diesen Mehrbetrag an Energie, der zunächst die Dehnung und sodann die Zerreißung der Plasmaschicht bewerkstelligen muß, alle Messungen des osmotischen Druckes im Inneren der Zelle zu hoch aus. Feststellungen über die Größe dieser Fehlerquelle werden sich bei der unzureichenden Kenntnis des Aggregatzustandes des Protoplasmas nur sehr schwer machen lassen. Es darf jedoch wohl angenommen werden, daß die Abweichungen meist nur gering sein werden, sodaß sie noch innerhalb der Fehlergrenzen bleiben.

Schwieriger ist es dagegen, zu der Frage nach der Schicht, welche für die diosmotischen Vorgänge verantwortlich zu machen ist, Stellung

zu nehmen. Wir haben bereits gesehen, daß Pfeffer das Zustandekommen der osmotischen Leistungen auf die von ihm geforderte Plasmahaut, der „andere Strukturverhältnisse und Eigenschaften als dem umschlossenen Protoplasma“ (1886, S. 316) zukommen, zurückführt. Aus seinen Ausführungen geht deutlich hervor, daß er sich diese Plasmahaut nach erfolgter Kontraktion durch plasmolysierende Agentien noch dem kontrahierten Zelleibe anliegend denkt. Es sei hier, abgesehen von den im ersten Teile gegebenen diesbezüglichen Belegen, eine Stelle aus seiner „Pflanzenphysiologie“ angeführt: „.... Wenn Plasmolyse herbeigeführt ist, so bleibt dasselbe Verhältnis bestehen, da jetzt an Stelle des Gegendrückes der stützenden Zellwand der osmotische Druck der plasmolysierenden Lösung gegen die Hautschicht getreten ist.“ (S. 118.)

Eine derartige Forderung läßt sich schwer mit den Vorgängen in Einklang bringen, wie sie sich bei der Plasmolyse tatsächlich abspielen. Offenbar spricht die Dehnung und Zerreißung des Plasmas bei plasmolytischer Kontraktion durchaus dagegen, daß eine den gesamten Protoplasten in normalem Zustande gegen die Zellwand abgrenzende Plasmahaut auch noch nach erfolgter Plasmolyse dem kontrahierten Zellinneren auflagert. Auf Grund der geschilderten plasmolytischen Kontraktionserscheinungen ist gewiß die Annahme berechtigt, daß bei der Plasmolyse nicht eine äußere Plasmahaut (Hautschicht) für den eigentlichen Kontraktionsvorgang maßgebend ist, sondern daß an deren Stelle entweder die ganze Plasmamasse oder nur die innere Plasmahaut (Vakuolenwand) von ausschlaggebender Bedeutung sein wird, da diese im Gegensatze zur äußeren Plasmahaut durch die Kontraktion in ihrer Funktion nicht gestört wird.

Inwieweit jedoch die für die Plasmolyse angenommenen Verhältnisse auch auf normale unplasmolysierte Zellen übertragen werden dürfen, ist ohne weiteres nicht zu entscheiden. Müssen wir uns doch stets vergegenwärtigen, daß bei dem Dehnungs- und Zerreißungsvorgange bei Plasmolyse in den gesamten Protoplasten tief eingreifende Veränderungen vor sich gehen, wie sie sich in Pflanzenzellen unter natürlichen Verhältnissen niemals abspielen werden.

E. Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit haben zu nachstehenden Resultaten geführt:

1. Unter dem Einflusse plasmolysierend wirkender Lösungen auf Pflanzenzellen findet in diesen zunächst Dehnung und darauf folgend Zerreißung des Plasmas statt.

2. Infolge des Zerreißungsvorganges werden Plasmafäden in großer Anzahl zwischen der Zellwand und dem sich kontrahierenden Proto-

plasten ausgezogen. Diese Plasmafäden können sehr verschiedene Dicke aufweisen.

3. Gleichzeitig mit den Plasmafäden tritt als direkte Folge des Zerreißungsprozesses ein der Zellwand eng anliegendes protoplasmatisches Netzwerk in die Erscheinung.

4. Dieses Netzwerk bildet, vornehmlich in seinen Verzweigungspunkten, die Ansatzstellen für die zahlreichen durch die Plasmolyse hervorgerufenen Plasmafäden.

5. An dem Aufbau der Plasmafäden und des Netzwerkes nehmen sowohl Hyalo- wie Körnerplasma teil. Neben Mikrosomen treten in chlorophyllhaltigen Zellen, besonders in den größeren Plasmaansammlungen auf der Innenseite der Zellwand, des öfteren auch Chlorophyllkörner auf.

6. Als Grund für das Haftenbleiben von Plasma an der Zellwand bei Plasmolyse dürfte eine innige Wechselbeziehung (Verwachsung) zwischen beiden Komponenten anzunehmen sein.

Literaturnachweis.

Bower, F. O., On Plasmolysis and its bearing upon the relations between cell wall and protoplasm. Quarterly Journal of Microscop. Science. New Ser. Vol. XXIII. 1883. S. 151—168.

Chodat, R. et Boubier, A. M., Sur la plasmolyse et la membrane plasmique. Journal de Botanique. T. XII. 1898. No. 8. S. 118—132.

Frank, A., Lehrbuch der Botanik. 1892.

Gardiner, W., On the continuity of the Protoplasm through the walls of vegetable cells. Arbeiten des Bot. Inst. in Würzburg. 1884. Bd. III. Heft 1. S. 52—87.

Giesenhagen, K., Lehrbuch der Botanik. 1894.

Goroschankin, J., Zur Kenntnis der Korpuskula bei den Gymnospermen. Bot. Zeitg. 1883. No. 50. S. 825—831.

Hansen, A., Pflanzen-Physiologie. 1890.

Hansteen, B., Studien zur Anatomie und Physiologie der Fucoideen. Pringsh. Jahrb. 1892. Bd. 24. S. 317—362.

Hertwig, O., Allgemeine Biologie. 1906.

Hillhouse, W., Einige Beobachtungen über den interzellularen Zusammenhang von Protoplasten. Bot. Zentralbl. 1883. Bd. 14. S. 89—94 und S. 121—125.

Hofmeister, W., Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867.

Jönsson, B., Siebähnliche Poren in den trachealen Xylemelementen der Phanerogamen, hauptsächlich der Leguminosen. Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1892. Bd. 10. S. 494—513.

Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1908.

Klebs, G., Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Untersuch. a. d. Bot. Inst. z. Tübingen 1886—1888. Heft 2. S. 489—568.

Kohl, F. G., Protoplasmaverbindungen bei Algen. Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1891. Bd. 9. S. 9—17.

Küster, E., Über die Verschmelzung nackter Protoplasten. Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1909. Bd. 27. Heft 10. S. 589—598.

— Über Inhaltsverlagerungen in plasmolysierten Zellen. Flora. 1910. Bd. 100. Heft 2. S. 267—287.

— Eine Methode zur Gewinnung abnorm großer Protoplasten. Sonderabdr. a. d. Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen. XXX. (Fest-) Band f. Prof. Roux. I. Teil. 1910. S. 351—355.

— Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse. Abdr. a. d. Zeitschr. f. Bot. 1910. 2. Jahrg. Heft 11. S. 689—717.

Meyer, A., Die Plasmaverbindungen und die Membranen von Volvox globator, aureus und tertius, mit Rücksicht auf die tierischen Zellen. Bot. Zeitg. 1896. Heft 11 und 12. S. 187—217.

Nägeli, C., Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Zürich 1855.

Pfeffer, W., Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.

— Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen. Unters. aus d. Bot. Inst. zu Tübingen. 1886—1888. Bd. II, Heft 2. S. 179—332.

— Zur Kenntnis der Plasmahaut und der Vakuolen nebst Bemerkungen über den Aggregatzustand des Protoplasmas und über osmotische Vorgänge. Abhandlung der mathem.-physik. Klasse d. kgl. sächs. Gesellsch. der Wissenschaften. 1890. Bd. 16. S. 187—344.

— Pflanzenphysiologie. 1897. Bd. I.

Poirault, G., Recherches anatomiques sur les Cryptogames vasculaires. Annales des sciences naturelles, VII. Série. Botanique. Bd. XVIII. 1893. S. 113—256.

Pringsheim, N., Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. Berlin 1854.

Sachs, J., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1887.

Strasburger, E, Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Pringsh. Jahrb. 1901. Bd. 30. S. 493—610.

Strasburger, Jost, Schenck, Karsten, Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. Jena 1911.

Tangl, E., Über offene Kommunikation zwischen den Zellen des Endosperms einiger Samen. Pringsh. Jahrb. 1879—1881. Bd. 12. S. 170—190.

de Vries, H., Über die Ausdehnung wachsender Pflanzenzellen durch ihren Turgor. Bot. Ztg. 1877. Bd. 35. S. 1—10.

— Untersuchungen über d. mechanischen Ursachen d. Zellstreckung. Leipzig 1877.

— Leerboek der Plantenkunde. Amsterdam 1880. I. Teil.

— Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Pringsh. Jahrb. 1884. Bd. 14. S. 427—601.

— Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. Pringsh. Jahrb. 1885. Bd. 16. S. 465—598.

Figurenerklärung.

Tafel V.

Fig. 1—4, 6, 8, 9. Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Allium Cepa.

Fig. 1. Plasmolytikum 3% KNO_3. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach.

Fig. 2. Plasmolyt 5% KNO_3. Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen; Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach.

Fig. 3. Plasmolyt 10% KNO_3. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach. (Von der Kunstanstalt retuchiert.)

Fig. 4. Plasmolyt 7% KNO_3. Fixierung mit Osmiumchromessigsäure; Färbung mit Eosin. Vergr. 570fach.

Fig. 5. Zellen aus dem Marke von Calla. Plasmolyt 10% KNO_3. Fixierung mit Osmiumchromessigsäure; Färbung mit Eosin. Vergr. 570fach.

Fig. 6. Plasmolyt 10% Traubenzucker. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach.

Fig. 7. Epidermiszelle von Tradescantia discolor. Plasmolyt 10% Traubenzucker. Fixierung mit Osmiumchromessigsäure; Färbung mit Eosin. Vergr. 570fach. (Von der Kunstanstalt retuchiert.)

Fig. 8. Erste Plasmolyse mit 10% Traubenzucker; zweite Plasmolyse nach einmal 24 Stunden mit konzentriertem KNO_3. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach.

Fig. 9. Erste Plasmolyse mit 10% Traubenzucker; nach viermal 24 Stunden zweite Plasmolyse mit konzentriertem KNO_3. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 290fach. (Von der Kunstanstalt retuchiert.)

Tafel VI.

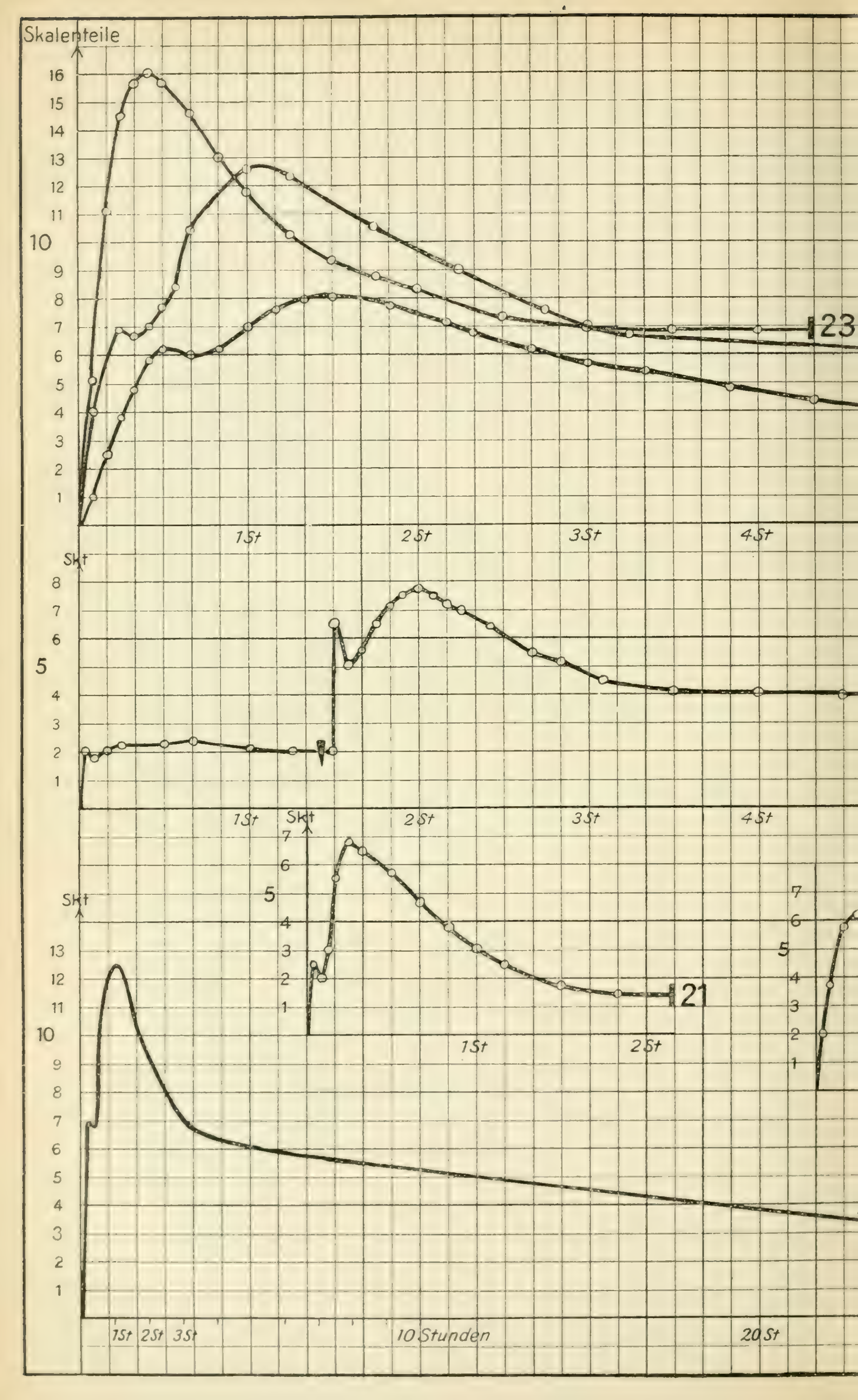
Die Figuren dieser Tafel sind mit Hilfe eines Zeichenapparates (Leitz-Wetzlar) angefertigt worden.

Fig. 1. Obere Flächenansicht einer Epidermiszelle der Zwiebelschuppen von Allium Cepa. Plasmolyt 9% KNO_3. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 315fach.

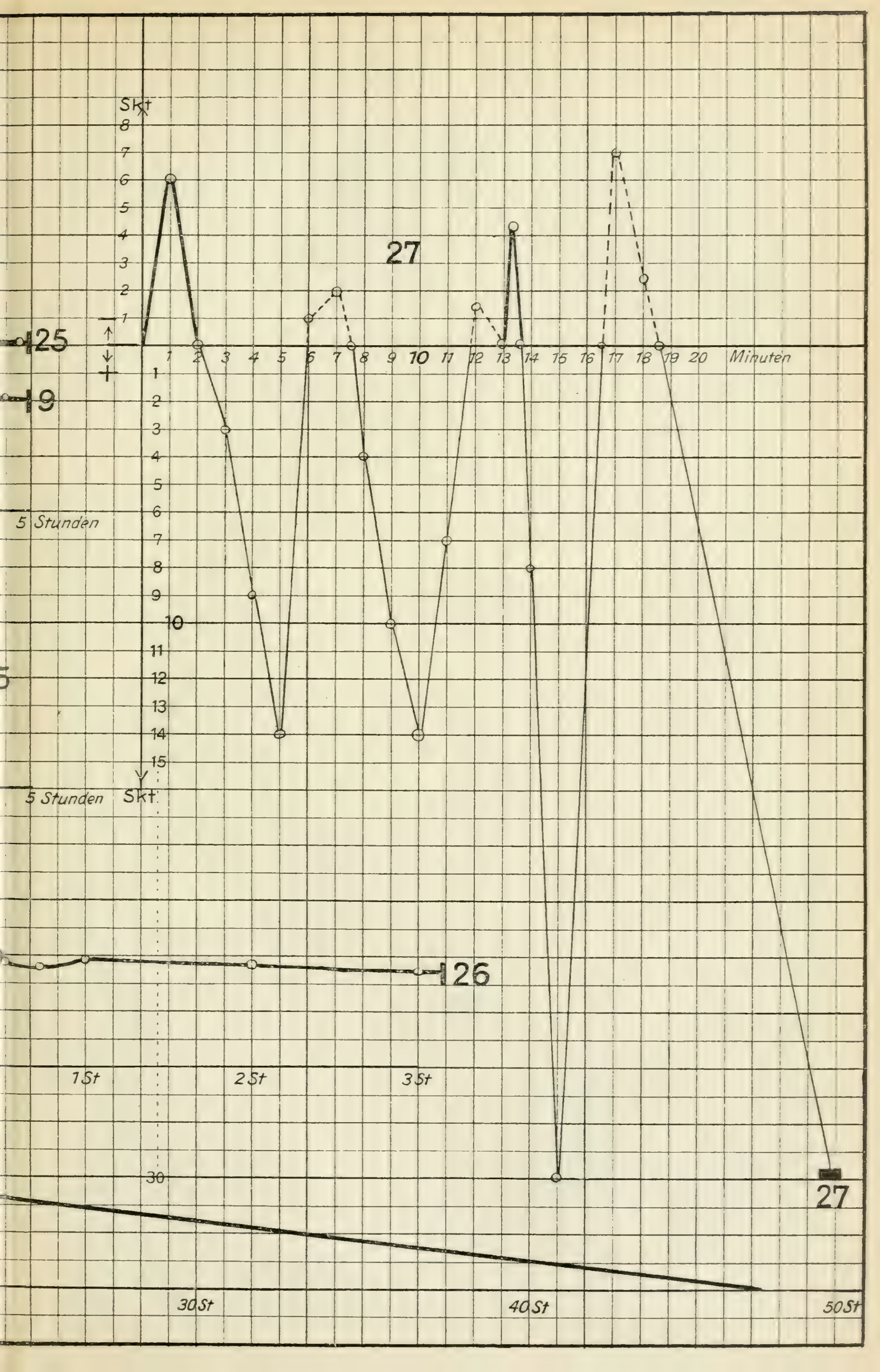
Fig. 2. Obere Flächenansicht einer Epidermiszelle eines grünen Sprosses von Allium Cepa. Plasmolyt 10% Traubenzucker. Direkte Färbung mit Eosin. Vergr. 1700fach.

Fig. 3. Haarzelle eines spitzendigenden Haares des Blattstieles von Cucurbita Pepo. Erste große Zelle über der Haarbasis. Plasmolyt Traubenzuckerlösung. Fixierung mit Osmiumchromessigsäure; Färbung mit Eosin. Vergr. 550fach.





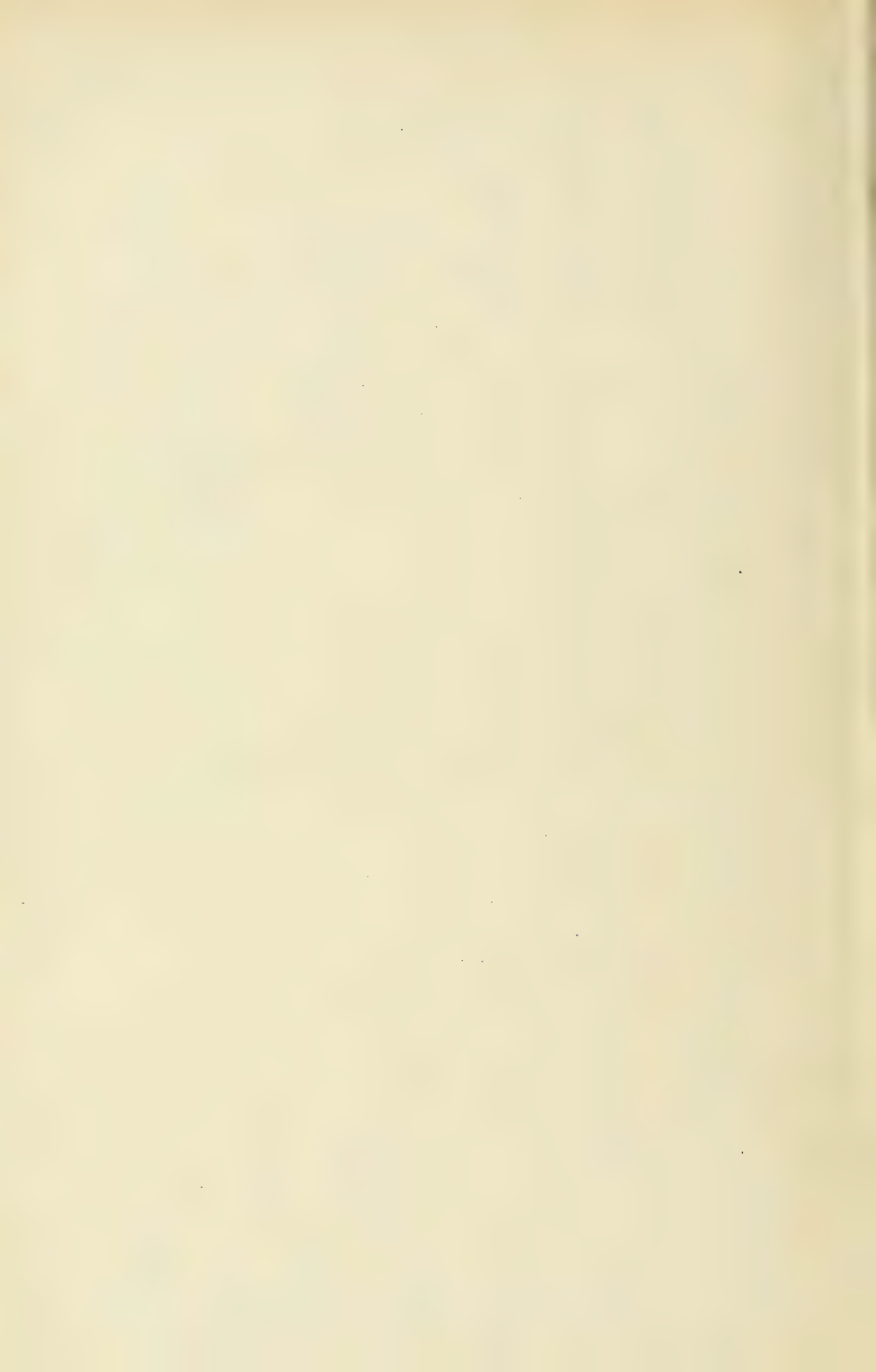
Skalenteile
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
1St
2St
3St
4St
23
Skt
8
7
6
5
4
3
2
1
1St
2St
3St
4St
Skt
7
6
5
4
3
2
1
21
1St
2St
Skt
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
1St 2St 3St
10 Stunden
20 St
7
6
5
4
3
2
1

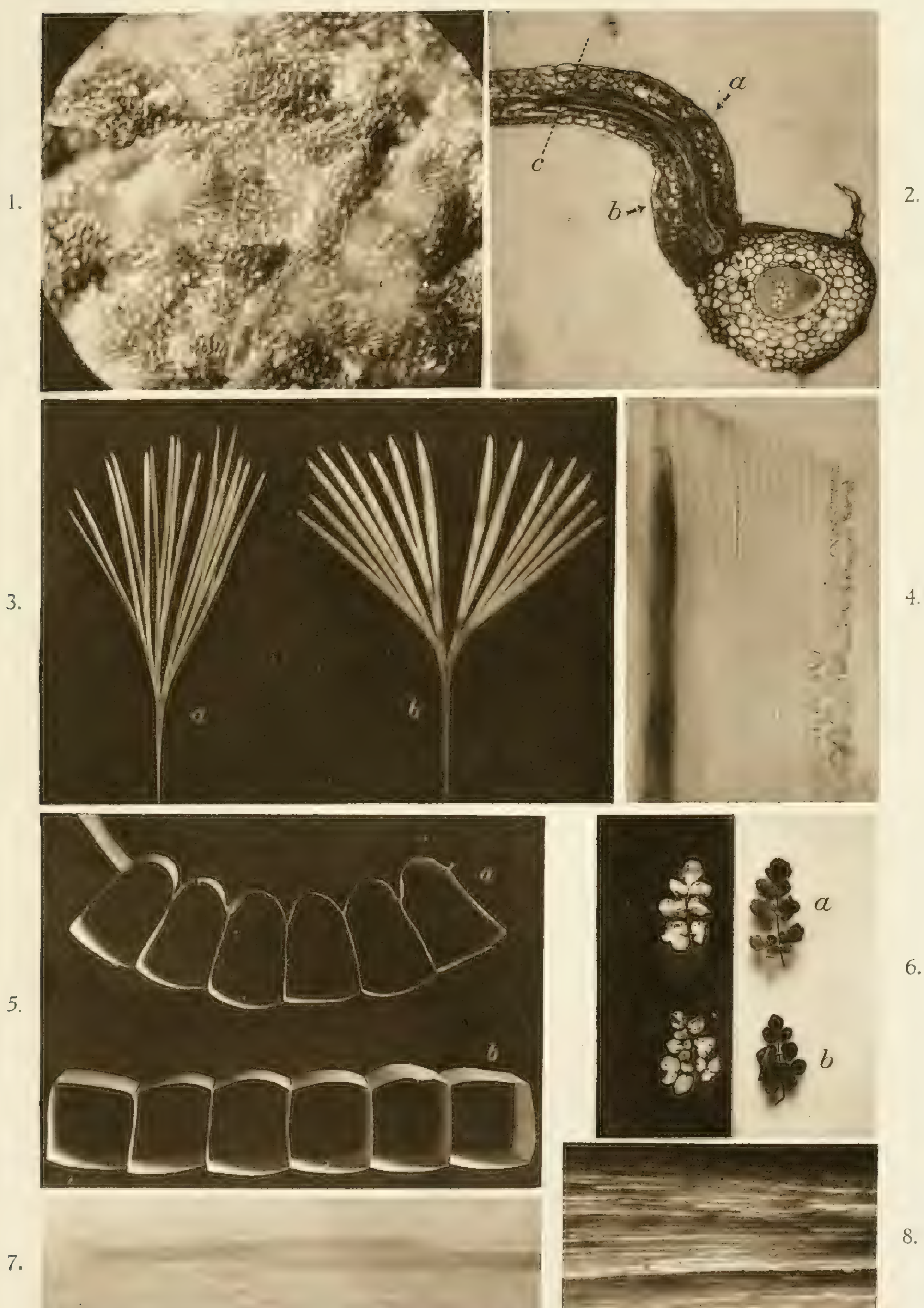


Skt
8
7
6
5
4
3
2
1
27
25
9
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
Minuten
5 Stunden
5 Stunden
Skt
30
26
1 St
2 St
3 St
30 St
40 St
50 St
27



Skt
32
7 Stunden
34
6 Stunden
Skt
37
Stunden
Skt
41
6 Stunden
Skt
42
4 Stunden

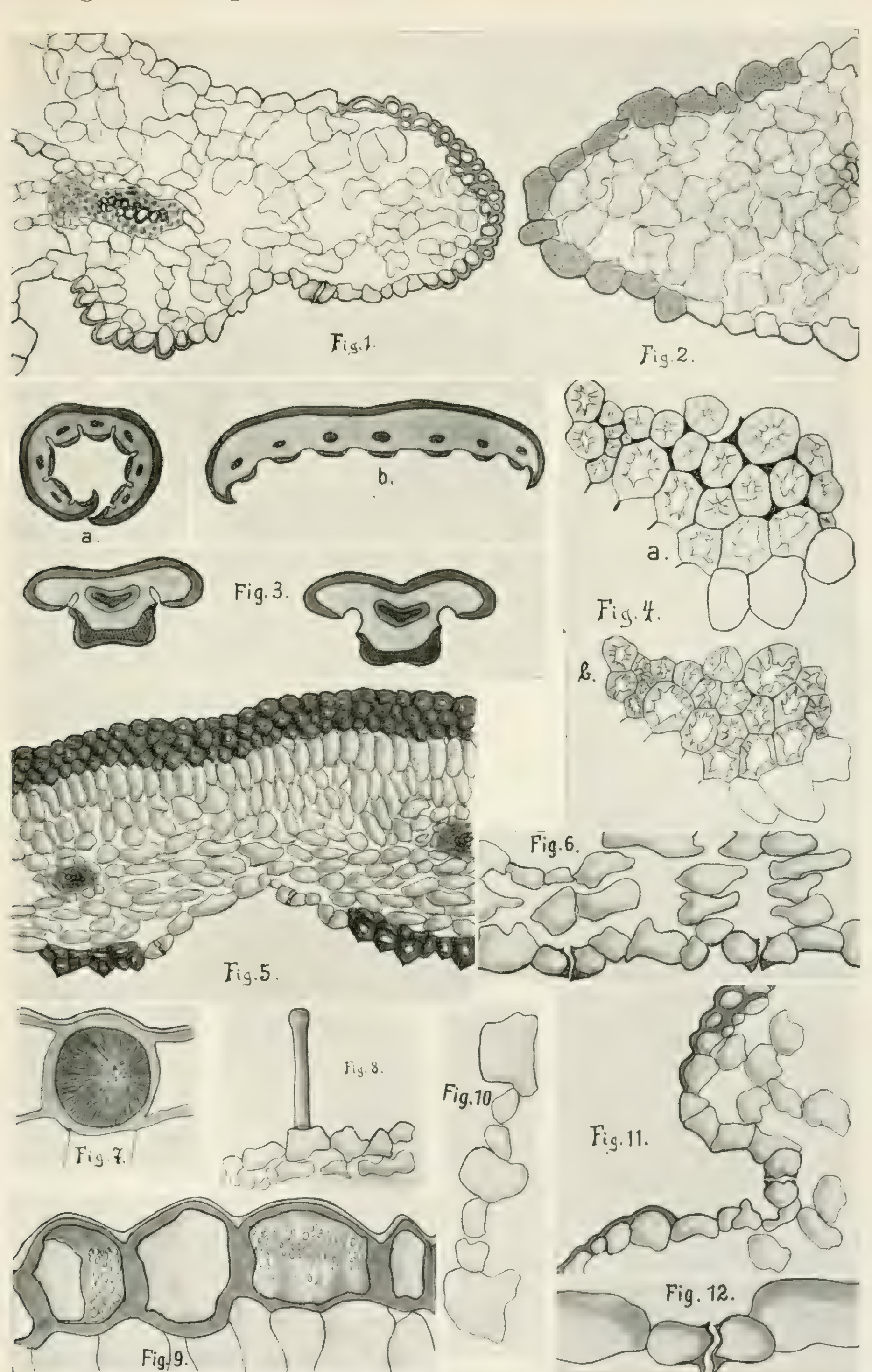




R. Schaede, phot.

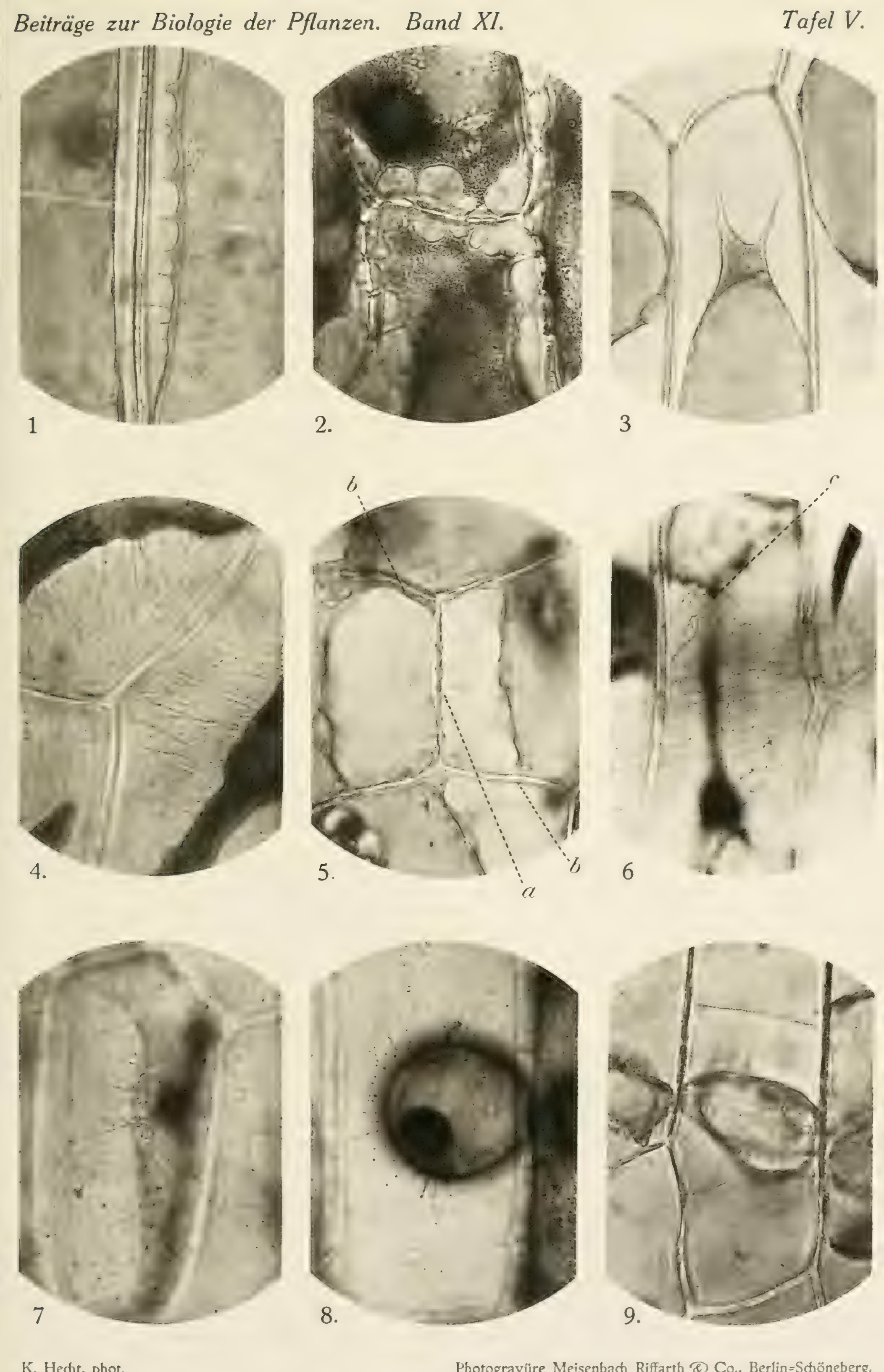
Photogravure Meisenbach Riffarth & Co., Berlin-Schöneberg.





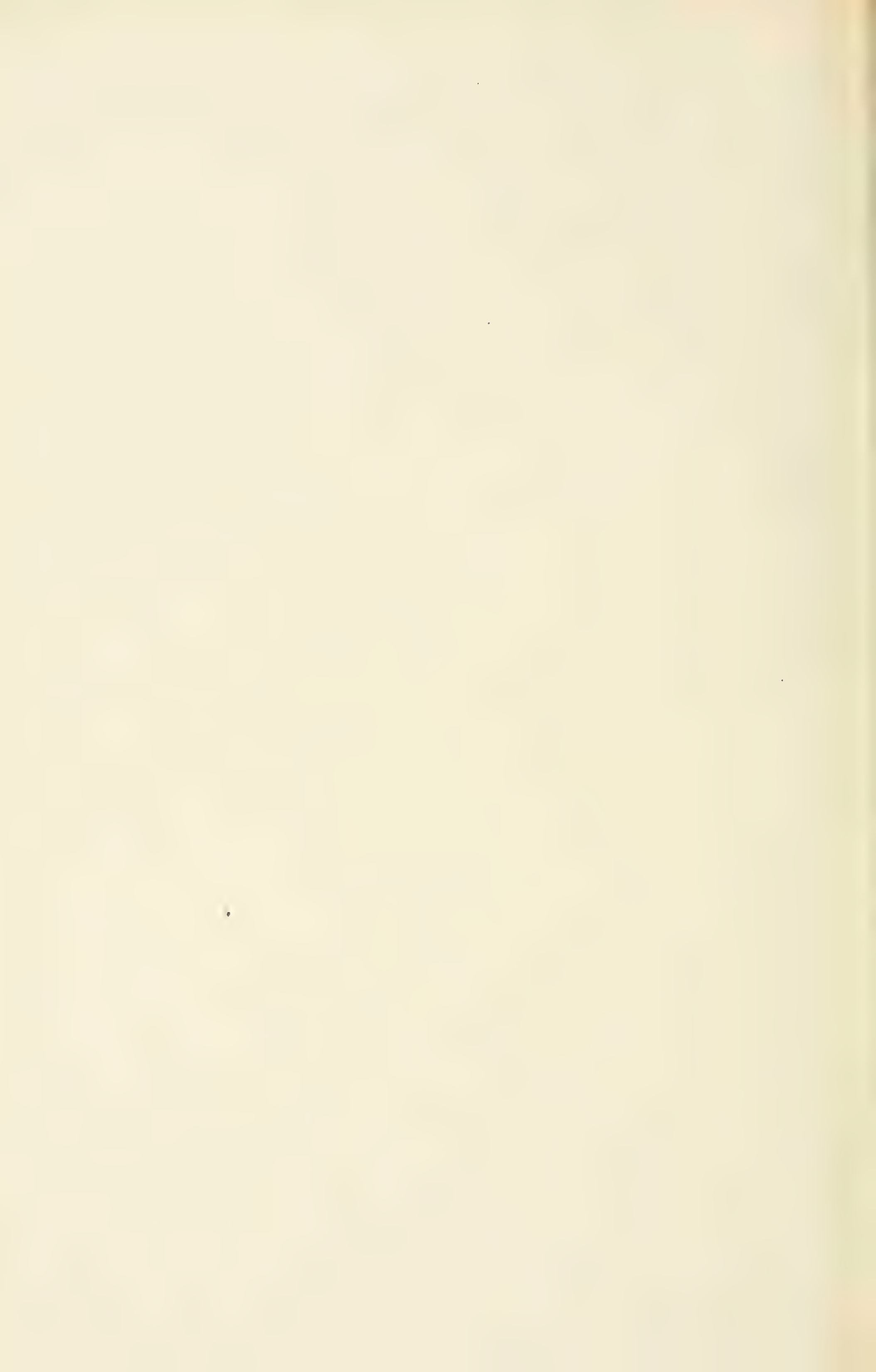
R. Schaede del. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig*

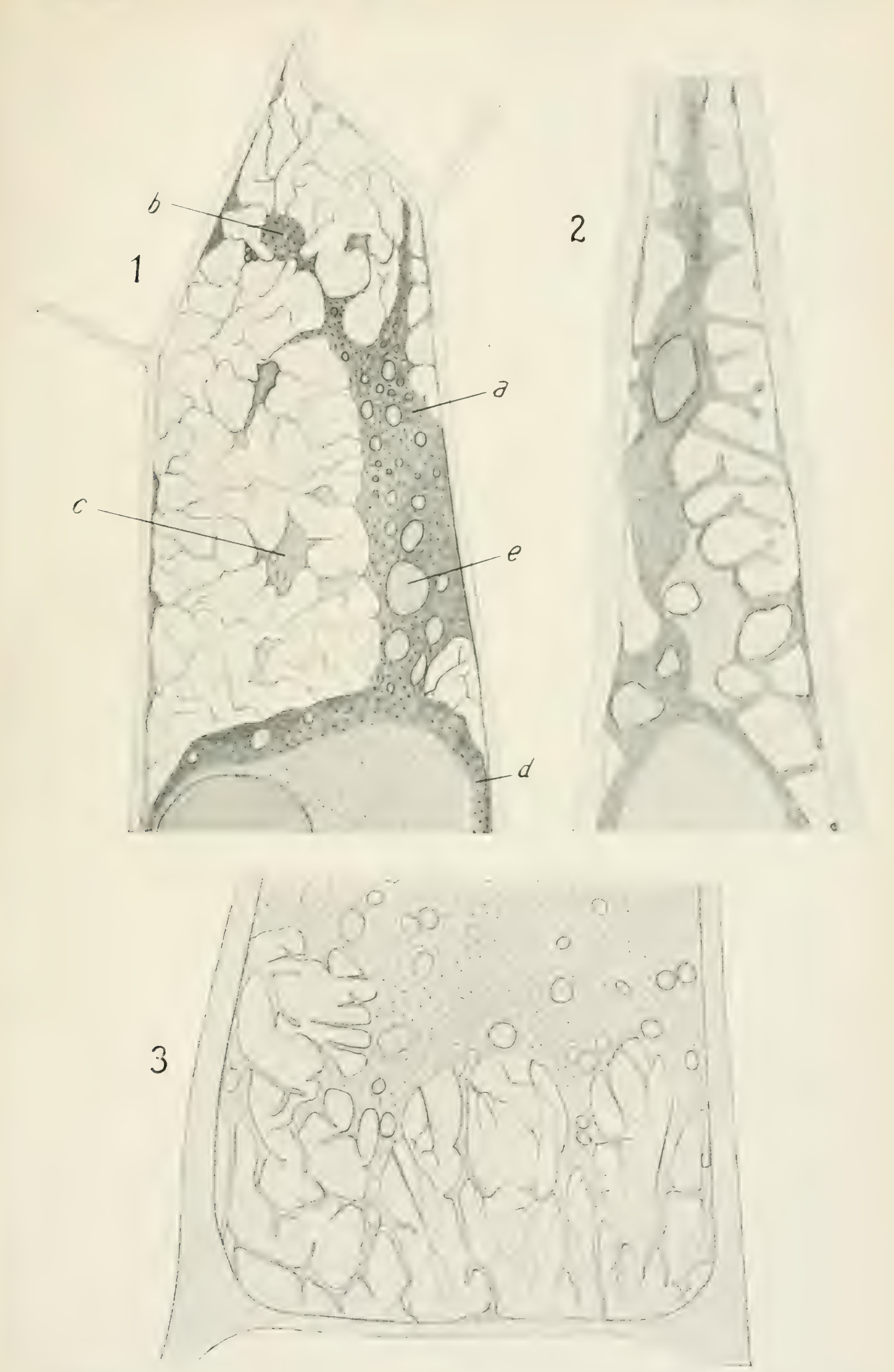




K. Hecht, phot.

Photogravüre Meisenbach Riffarth & Co., Berlin-Schöneberg.





K. Hecht del. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig*



Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

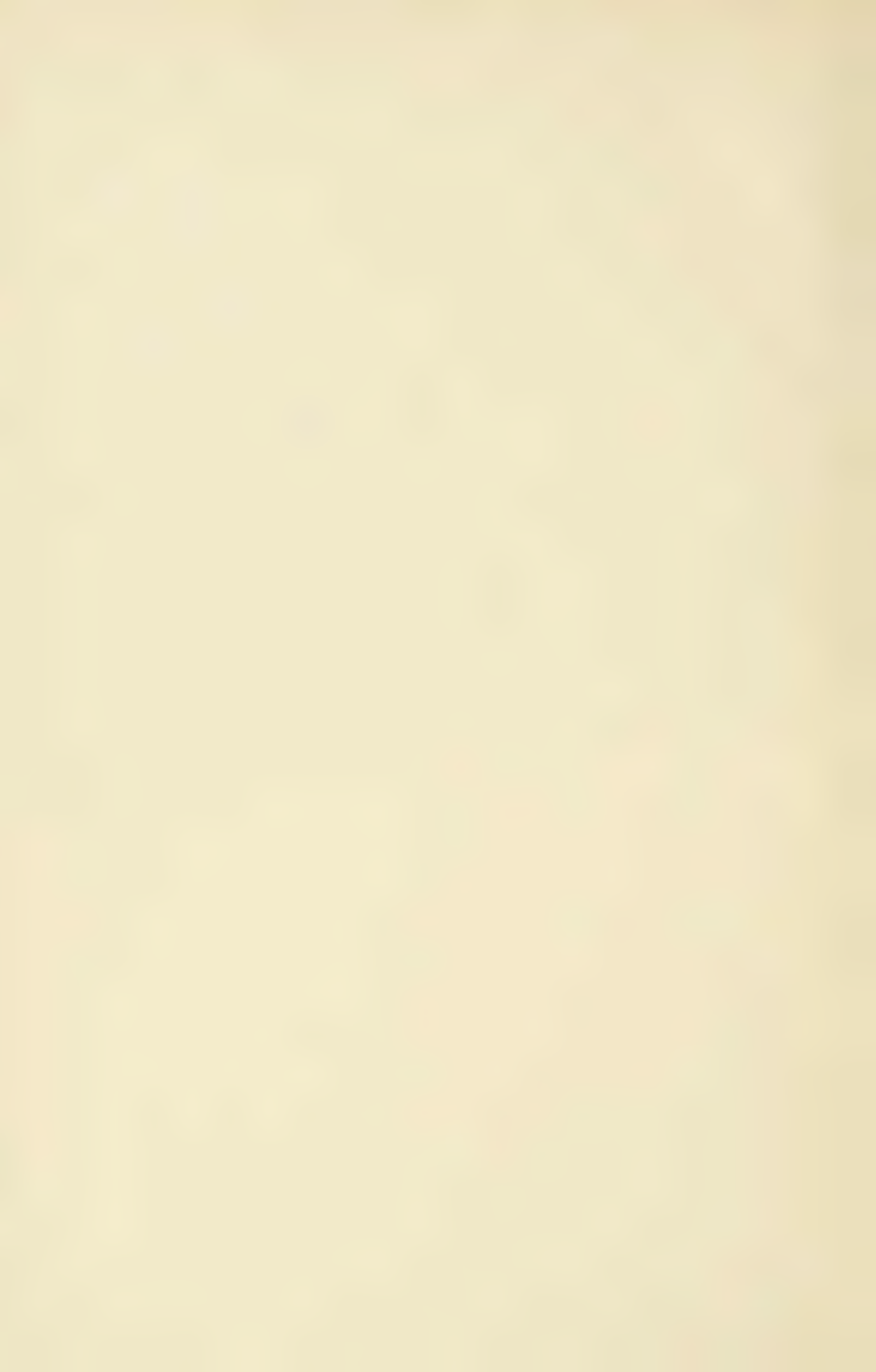
Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

Elfter Band. Zweites Heft.
Mit vier Tafeln.

Breslau 1912.
J. U. Kern's Verlag
(Max Müller).



Inhalt des zweiten Heftes.



Die ersten Stadien der Kohlensäureausscheidung bei quellenden Samen.

Von O. Jauerka.

(Mit Tafel VII u. VIII.)

A. Einleitung.

Die Pflanzenatmung stellt nach Ad. Mayer[1]) einen jener elementaren physiologischen Vorgänge dar, auf deren Suche eine rationelle Physiologie vor allem ausgehen muß, und deren Erörterung sich vor allem lohnt. Beschäftigt man sich näher mit diesem Problem, so sieht man, falls die Atmung als eine von den mannigfachen Äußerungen der Lebenstätigkeit aufgefaßt wird, bei weiterem Vordringen immer mehr ein, daß man dieses Leben an sich nicht näher zu begreifen und zu definieren vermag, da die Summe seiner Merkmale mit unserer wachsenden Erkenntnis ins Ungemessene steigt und seine Begrenzungen immer weiter ins Ungewisse fliehen. Es gelingt nur Faktoren zu isolieren, durch deren Einzelstudium man dann rückschließend die Lebensvorgänge im allgemeinen deuten zu können hofft. Solche Erwartungen treiben wohl auch mit die intensiven Untersuchungen, welche immer mehr Licht zu bringen wünschen in unsere trotz gewaltiger Fortschritte noch nicht ganz klaren Vorstellungen hinsichtlich der tierischen und pflanzlichen Atmung.

Von allen Seiten, besonders von derjenigen der enzymatischen Forschung, rückt man gegen dieses Gebiet vor und behandelt jeden einzelnen nur bekannten Faktor für sich und seine Beziehungen zu den anderen, um dann auf das Ganze, auf die Atmung als einheitlichen Prozeß zu schließen. Daß man diesen Prozeß bis in seine innersten Phasen jemals wird voll erkennen können, ist, wie schon oben angedeutet, kaum zu erwarten. Dagegen sprechen schon jetzt die zahlreichen Erklärungsversuche und Hypothesen; man braucht hierbei nur an diejenigen zu denken, welche sich auf den Vorgang der enzymatischen Wirksamkeit beziehen.

In anderer Hinsicht erkennen wir aber immer mehr, wie parallel die Lebensvorgänge im tierischen und pflanzlichen Organismus ver-

[1]) Adolf Mayer, Über den Verlauf der Atmung beim keimenden Weizen. Landw. Versuchsstat. 1875 (18), S. 245.

laufen — ich erinnere hierbei nur an die Phytohaematine Palladins[1]); auch andere[2]) Autoren finden eine weitgehende Analogie —, und gerade diese Analogie erweckt gewiß in uns das große Interesse zu dem Studium der pflanzlichen Physiologie. Wir wollen eben die Grenzen unserer Erkenntnis bezüglich des Lebens und seiner Erscheinungen so weit wie möglich vorrücken; — dieses Leben klarer und deutlicher zu erkennen ist unser innigstes Streben.

Die überaus reiche Literatur von dem Entdecker der Pflanzenatmung Ingenhouß (1779) bis zur Gegenwart zeugt von dem Eifer, mit welchem man sich dem Studium des Respirationsprozesses widmete. In neuerer Zeit ist es vor allem die Palladinsche Schule, welche Fortschritte auf diesem Gebiete zu verzeichnen hat. Mannigfache Wandlungen haben die Anschauungen erfahren, mochten sie sich auf den Atmungsverlauf als solchen oder den Einfluß einzelner Faktoren auf diesen Prozeß beziehen. Vor allem tritt uns bei diesen Untersuchungen als ein besonders wichtiger Faktor die Temperatur entgegen.

Nehmen wir trockne Samen und untersuchen sie auf ihre Atmungstätigkeit, so finden wir, daß mittels der üblichen Methoden keine Kohlensäureausscheidung nachzuweisen ist. Der Stoffwechsel in den Zellen lufttrockner Samen vollzieht sich so schwach, daß man von einer eigentlichen Kohlensäureproduktion kaum noch sprechen kann. Die Samen ruhen also. Bietet man ihnen dagegen die Möglichkeit, Wasser aufzunehmen, so ändert sich das Bild, man möchte fast sagen, mit einem Schlage. Je nach der Höhe der Temperatur wird das Wasser mehr oder minder begierig aufgesogen —, die Samen quellen. Zunächst sehen wir physikalische, dann chemisch physiologische und wahrscheinlich auch morphologische Änderungen am Samen vor sich gehen: die Pflanze erwacht; man kann z. B. eine deutliche Steigerung der Atmungsintensität beobachten. Dieses Erwachen der Pflanze aus dem Ruhestadium im Samen, in welchem sie auf günstige Keimungsbedingungen harrt, speziell diesen Beginn einer deutlich wahrnehmbaren Atmung näher zu untersuchen, soll das Ziel der vorliegenden Abhandlung sein. Die Fragestellung lautet also etwa: wann und wie beginnt eine merkliche Atmung, d. h.:

---

[1]) Palladin vereinigt darunter die als Atmungspigmente bezeichneten oxydierten Chromogene, um auf ihre dem Haematin des Blutes gleiche physiologische Bedeutung hinzuweisen. W. P., „Über das Wesen der Pflanzenatmung". Biochem. Zeitschr. XVIII. 1909, S. 151—206, und „Die Atmungspigmente der Pflanzen". Zeitschr. für physiologische Chemie LV. 1908, S. 207.

[2]) E. Abderhalden und A. Schittenhelm, „Die Wirkung der proteolyt. Fermente keimender Samen des Weizens und der Lupinen auf Polypeptide". Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 49, 1906, S. 26.

a) welche Bedingungen sind nötig, um eine solche wahrnehmbare Atmung zu veranlassen, und wann sind ihre ersten Spuren nachweisbar,

b) lassen die gefundenen Resultate irgend welche anatomischen und chemisch physiologischen Gesetzmäßigkeiten erkennen?

Es ist bei einem derartigen Problem von vornherein zu erwarten, daß es sich darum handeln wird, minimale Veränderungen in der Atmungsgröße oder im physiologischen Verhalten mit Sicherheit festzustellen, daß man daher zunächst sein Augenmerk auf eine sehr empfindliche und dabei sichere Methode zu lenken hat. Ist dann an der Hand einer großen Zahl von einheitlichen Untersuchungen eine sichere Grundlage geschaffen, so kann man bei weiterem Fortschreiten darauf fußen und durch Variationen besonders bezüglich des Materials einen tieferen Einblick in die Einzelvorgänge des Gesamtprozesses bekommen.

B. Untersuchungen.

I. Methodischer Teil.

Die Pflanzenatmung beruht im wesentlichen auf Sauerstoffabsorption und der Ausscheidung von Kohlensäure und Wasser. Läßt man das letztere unberücksichtigt, so kann man den Respirationsprozeß in zweierlei Hinsicht untersuchen: einmal kann die Sauerstoffaufnahme, dann die Kohlensäureabgabe verfolgt werden. Man könnte auch beide Betrachtungsweisen kombinieren und das quantitative Verhältnis beider Größen $\frac{CO_2}{O_2}$ prüfen sowie seine etwaigen Änderungen näher verfolgen[1]). Das letztere Verfahren ist jedoch für unsere Zwecke nicht gerade praktisch, da die Änderung eines Quotienten auf der Änderung zweier Größen beruhen kann. Da ferner anzunehmen ist, daß die bei einer minimalen Atmungsintensität aufgenommenen Sauerstoffmengen aus methodischen Gründen zu gering sein würden, als daß sie hätten genau festgestellt werden können, so beschränkte ich mich auf die Bestimmung der ausgeschiedenen Kohlensäurequanten.

a. Methode.

Als Grundlage für die Methode diente die bekannte Versuchsanstellung von Pettenkofer-Pfeffer[2]), die so modifiziert wurde,

---

[1]) z. B. G. Bonnier et L. Mangin, Recherches sur les variations de la respiration avec le développement des plantes. Annal. d. scienc. natur. VII. série, T. 2, 1885.

[2]) W. Pfeffer, Über intramolekulare Atmung. Untersuchungen aus dem botan. Institut zu Tübingen, I. S. 636 (1881—85). Vergl. W. Palladin und S. Kostytschew in Abderhaldens Handbuch zu biochem. Arbeitsmethoden, III. 1910, S. 479.

wie es langwierige Vorversuche als praktisch erwiesen. Ein kohlensäurefreier Luftstrom wurde über das Untersuchungsmaterial geleitet und die mitgerissene Kohlensäure an eine Kalkwasserlösung von bekanntem Titer gebunden. Als Maßstab der Atmungsintensität wählte ich die Zeit, innerhalb deren eine bestimmte Menge Kohlensäure abgeschieden wurde.

Der Apparat.

Um den Apparat besonders für ausgedehnte Versuche dicht gegen die Einwirkung der atmosphärischen Kohlensäure abzuschließen, waren große Schwierigkeiten zu überwinden. Denn Gummistopfen und auch gute Gummischlauchverbindungen erwiesen sich nicht einwandsfrei; und doch hat sich die Mehrzahl der bisherigen Autoren mit Gummidichtungen begnügt. Nur Kolkwitz[1]) scheint von pflanzenphysiologischer Seite diese Fehlerquelle bisher berücksichtigt zu haben; wenigstens hebt er allein hervor, daß Gummi Sauerstoff aufnimmt und Kohlensäure abscheidet. Dieser Übelstand mußte besonders dann zu befürchten sein, wenn höhere Temperaturen bei den Versuchen verwendet wurden. Die anderen Autoren konnten auch diese Fehlerquelle bis zu einem gewissen Grade unberücksichtigt lassen insofern, als sie mit konstanten Zeiten und größeren Kohlensäuremengen arbeiteten und so ganz gut einen relativen und kleinen Fehler in Anrechnung bringen konnten. Bei den hier angestellten Versuchen mußte dies vermieden werden, da die Dauer der Versuche außer von anderen Faktoren besonders von der Temperatur abhing und die Zeit so von vornherein unbestimmt war. So hätte man bei der zu erwartenden minimalen Atmung leicht falsche Schlüsse ziehen können.

Auch Versenken unter Wasser bietet keine Sicherheit, wovon man sich leicht überzeugen kann: man fülle ein Reagensglas mit destilliertem Wasser, mache es eine Spur alkalisch und deute dies durch einen Indikator, etwa Phenolphtaleïn, an. Das Glas wird mit einem sauberen (Gummi- oder) Korkstopfen verschlossen und unter Wasser gebracht. Schon nach einigen Stunden verschwindet die Alkalinität, wie der Indikator anzeigt. Die Lösung wird neutralisiert, und zwar durch die im Wasser gelöste Kohlensäure.

Selbst Glasschliffe sind erst auf ihre Güte hinsichtlich eines dichten Luftverschlusses zu prüfen. Dies kann man sehr leicht, indem man die Schliffe unter Quecksilber bringt und den Apparat unter Druck setzt: an den undichten Stellen springt dann das Quecksilber empor, und man sieht so die Luft entweichen. Einzige Sicherheit bieten nur direkte Gasverschmelzungen und, soweit es nötig ist, gute, gefettete

---

[1]) R. Kolkwitz, Über die Atmung der Gerstenkörner. Blätter für Gersten-, Hopfen- und Kartoffelbau. Nov. 1901, S. 370—383.

Glasschliffe, die man zweckmäßig noch unter Quecksilber bringt (vergl. Fig. 2).

Die Untersuchungen wurden an zwei Apparaten vorgenommen: der eine war speziell für hohe, der andere für niedere Temperaturen gebaut. Bei mittleren (Zimmer-)Temperaturen wurden beide benutzt.

Der Luftstrom wurde nicht durchgesogen, wie die meisten Autoren es getan haben, sondern durchgedrückt. Den Vorteil dieses Verfahrens hatten mir Vorversuche gezeigt; auch Kolkwitz[1]) weist schon darauf hin. Zwei große Wasserflaschen, welche je 25 l faßten, wurden dazu verwandt; durch Abheben wurde die Luft durch den Apparat gepreßt. Der gleiche Gang wurde mittels Klemmschrauben so reguliert, daß etwa 3 l Luft stündlich durchgeleitet wurden. Vorgepumpt, wie ich das Befreien des Apparates von atmosphärischer Kohlensäure in der Vorperiode bezeichnen möchte, wurde schneller.

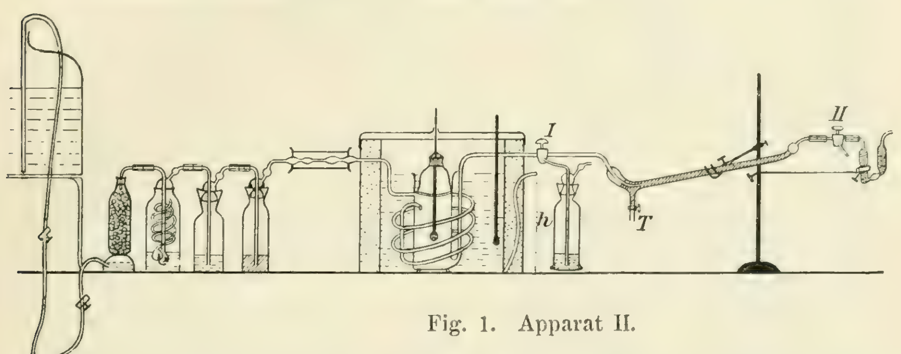


Fig. 1. Apparat II.

Um den in das Respirationsgefäß eintretenden Luftstrom kohlensäurefrei zu machen, wurde er bei dem Apparat für hohe Temperaturen, den ich als I bezeichnen will, durch ein Glasgefäß geleitet, in welchem sich unten Kalilauge, oben Natronkalk befand. Im Apparat für niedrige Temperaturen (II) war dieses Absorptionsgefäß durch ein U-rohr mit Bimsteinstückchen ersetzt, welche mit Kalilauge durchtränkt waren. Weiter passierte an beiden Apparaten die Luft eine große Waschflasche mit Spiralgang und eine gewöhnliche Waschflasche; beide enthielten ebenfalls Kalilauge. Diese wurde aus chemisch reinem Stangenkali hergestellt. Es folgte eine weitere Waschflasche, welche die gleiche Lösung wie die später sich anschließende Pettenkoferröhre enthielt. Diese Lösung sollte zum Vergleich dienen und anzeigen, daß der Luftstrom vor seinem Eintritt in das Respirationsgefäß tatsächlich frei von Kohlensäure war. Beim Apparat II war diese Ver-

[1]) R. Kolkwitz, Über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze. Jahrb. für wiss. Botanik. Bd. XXXIII. 1899.

gleichsflasche weggelassen worden, nachdem sicher festgestellt war, daß auch er kohlensäuredicht hielt.

Die ersten Waschflaschen waren mit dickem Luftpumpenschlauch verbunden und ganz nah aneinander gerückt, so daß die Glasenden innerhalb des Schlauches aufeinander stießen. Von der Stelle an, wo die Dichtigkeit auf Kohlensäure von größter Wichtigkeit war, besaß der Apparat nur Glasverbindung, d. h. die berührenden Enden der einzelnen Teile waren vom Glasbläser aneinander geschmolzen. Die Vergleichsflasche war mit dem sich anschließenden Schlangenrohr durch einen Ostwaldschen Doppelschliff verbunden. Ein Doppelschliff war gewählt, um die Schliffe gut ineinander drehen zu können. Durch Gummiband wurden sie dauernd noch weiter ineinander gepreßt. Dem Schliff folgte ein Schlangenrohr, Respirationsgefäß, Dreiweghahn und Pettenkoferröhre; die Anordnung kann man aus der Figur 1 ersehen. Die letzten 5 Teile waren aneinander geschmolzen, bildeten also mit der letzten Vergleichsflasche ein Stück und waren sämtlich aus Glas hergestellt. Scheinbar sieht das Ganze sehr zerbrechlich aus. In Wirklichkeit aber machen die mannigfachen Glaswindungen das System sehr elastisch. Dadurch, daß alles aus Glas und alles zusammengeschmolzen war, konnte man den Apparat für hohe und tiefe Temperaturen benutzen, ohne befürchten zu müssen, daß Verbindungen mit verschiedenen Ausdehnungskoëffizienten irgendwie Undichtigkeiten hervorrufen konnten.

Das Respirationsgefäß stand in einem Wasserthermostaten, dessen hohe und mittlere Temperaturen bei I mittels Sicherheitsleuchtgasbrenners und Reichardtschen Thermoregulators eingestellt und konstant gehalten werden konnten. Die tiefen Temperaturen wurden bei II durch Eis und Eiswasser erreicht, welches man in gewissen Mengen zutropfen ließ. Vom Boden dieses Wasserthermostaten für niedere Temperaturen ging ein Rohr ab und stieg bis zu der im Thermostaten gewünschten Wasserhöhe (h) an. Dieses sollte das zufließende Wasser regulieren und das zu Boden sinkende Wasser von 4° C. entfernen. Die Wasserthermostaten bestanden aus Metallgefäßen, die durch Packungen bei I mit Kieselgur und Asbest, bei II mit Sägespänen, Watte und Filz vor Wärmeverlust geschützt waren. Doch konnte bei dem Thermostaten für hohe Temperaturen die Gasflamme durch eine Aushöhlung den Boden des inneren wassergefüllten Gefäßes erreichen (s. Figur 2).

Die Luft wurde durch das im Wasserbade befindliche Glasschlangenrohr auf die gewünschte Temperatur vorgewärmt, trat von oben in das Atemgefäß ein und wurde vom Boden aus weiter geleitet, damit die dorthin sinkende ausgeatmete Kohlensäure, die ja schwerer ist als die atmosphärische Luft, mitgerissen würde. Vorversuche

Fig. 2.
Mittelstück des Apparates I.

zeigten, daß das Schlangenrohr seinen Anforderungen in Bezug auf die Vorerwärmung des Luftstromes besonders auch bei hohen Temperaturen genügte.

Der Deckel des Respirationsgefäßes besaß einen Glasschliff mit Quecksilberdichtung. Er hatte oben eine Öffnung, die etwa 2 cm flaschenhalsartig ausgezogen war. Durch diese wurde ein Thermometer gesteckt, welches bis zum Untersuchungsmaterial herabreichte. Das Thermometer saß in einem tief eingepreßten Gummistopfen, über den Quecksilber geschichtet war. Die noch übrig bleibende Vertiefung wurde mit Siegellack, in einem Falle (bei 65°) mit einem Gemisch von diesem mit Gips, zugeschmolzen.

Der Luftstrom trat aus dem Respirationsgefäß durch einen Dreiweghahn in die Pettenkoferröhre. Dieser Dreiweghahn war so eingerichtet, daß er nötigenfalls auch unter Quecksilber hätte gesetzt werden können, eine Vorsichtsmaßregel, die sich nachher bei Verwendung von gutem Hahnfett als unnötig erwies. Das Zuleitungsrohr war in die Pettenkoferröhre eingeschmolzen (s. Figur 2) und in eine feine Öffnung ausgezogen, damit die Luftperlen recht fein austreten konnten. Infolge des Innendruckes und der Kapillaritätskonstanten kann man leicht durch geeignete Stellung der Glashähne einen gleichmäßigen Gang der Luftbläschen erreichen (Kolkwitz). An dem unteren Knie der Pettenkoferröhre war ein Glastubus mit Hahn angeschmolzen, um durch ihn von der Nebenleitung des zweiten Dreiweghahns II aus durch Saugen die Röhre schnell beschicken zu können. Dies war wichtig, damit die Lösung nicht zu lange mit der atmosphärischen Luft in Berührung kam. Wie ich später bemerkte, hatte Rischawi[1]) schon eine im Prinzip ähnliche Verbesserung vorgeschlagen.

An die Pettenkoferröhre schloß sich mittels Luftpumpenschlauchverbindung wieder ein Dreiweghahn und an dessen einem Ende eine U-röhre mit Bimsteinstückchen und Kalilauge an, um das Eindringen der atmosphärischen Luft in den Apparat von dieser Stelle aus zu verhindern. Diese Schlauchverbindung erwies sich beim Stillstand des Apparates nicht sicher gegen das Eindringen von Kohlensäure, wohl aber war sie tagelang kohlensäuredicht beim Durchdrücken des Luftstromes. Die Pettenkoferröhre wurde deshalb erst immer kurz vor dem Durchleiten des Luftstromes frisch beschickt.

Der Dreiweghahn I war gewählt, um durch die eine Bohrung das Respirationsgefäß vor dem eigentlichen Versuche gut und bequem von Kohlensäure befreien zu können, welche beim Beschicken des

[1]) L. Rischawi, Einige Versuche über die Atmung der Pflanzen. Landw. Versuchsstat. 1876 (19), S. 321.

Apparates aus der Atmosphäre unvermeidlich mit hineingelangte. Es wurde bei dem Vorpumpen einfach ein kohlensäurefreier Luftstrom eine ausgemessene Zeitlang durch die Nebenleitung gedrückt, die durch eine Waschflasche mit Kalilauge vor dem Rücktritt der Kohlensäure aus der Luft geschützt war. Die Nebenleitung am zweiten Dreiweghahn diente, wie gesagt, dazu, durch Ansaugen die Pettenkoferröhre durch den Tubus (T) schnell füllen zu können (Fig. 1); dies konnte leicht während des Vorpumpens geschehen.

Die Dimensionen des Respirationsgefäßes waren ziemlich klein gewählt, um möglichst schnell auf die gewünschte Temperatur zu kommen und den schädlichen Raum zu verringern: Respirationsgefäß + Schlangenrohr + Zu- und Ableitung faßten rund 240 ccm. Das Respirationsgefäß hatte einen Durchmesser = 4 cm und eine Höhe = 13 cm. Die Wasserthermostaten sind auf den Figuren im Verhältnis zu klein dargestellt.

Die Lösung.

Als Maßstab für die Atmung wurde diejenige Zeit angesehen, innerhalb deren die Samen so viel Kohlensäure ausgeschieden hatten, daß sie damit eine alkalische Lösung von bekanntem Titer neutralisieren konnten. Die Untersuchung bez. der Atmungsintensität kann in diesem Falle natürlich nur relativ sein, da ihre Größe vom Titer der Lösung abhängt. Je geringer der Titer ist, um so weniger Kohlensäure brauchen die Samen auszuscheiden, um die Lösung zu neutralisieren; um so eher sehen wir also den durch einen Indikator angezeigten Umschlag erreicht, welcher nach meiner Methode den Beginn einer deutlichen Atmung darstellen soll. Je empfindlicher dieser Umschlag eingestellt ist, um so größer wird aber auch die Wirksamkeit der unvermeidlichen Fehler sein, wie sie beim Einfüllen der Lösung etc. begangen werden. Man muß sich also davor hüten, die Feinheit der Methode auf die Spitze zu treiben.

Langwierige Versuche hatte ich angestellt mit Nilblausulfat als Indikator. Die alkalische Lösung ist dabei rot und schlägt bei der Neutralisation in Blau um. Hierbei erschien mir Kalkwasser geeigneter als das sonst gebräuchliche Barytwasser. Kurze Versuche z. B. bei hohen Temperaturen mit Nilblau zeigten ganz befriedigende Resultate. Bei lang andauernden Versuchen mit minimaler Atmung bildeten sich dagegen ausfallende Salze, an die der (alkalisch) rote Farbstoff gebunden wurde, so daß die nunmehr farblose Lösung nicht in Blau umschlagen konnte.

Es wurde zu diesen Versuchen abgekochtes destilliertes Wasser, abgestandenes Leitungswasser, auch mit Zusatz von Alkohol, um die Fällung des Farbstoffes zu verhindern, oder von Chlornatriumlösung

benutzt, um einen leichteren Umschlag zu erzielen, — aber immer derselbe negative Erfolg.

Phenolphtaleïn zeigte diese unliebsame Nebenerscheinung nicht und lieferte besonders bei hohen Temperaturen den Umschlag recht scharf. Bei niederen Temperaturen, wo nur minimale Spuren von Kohlensäure ausgeschieden werden, dauert der Umschlag länger; aber bei einiger Übung kann man auch hier die Zeit des Umschlags besonders mittels Vergleichsröhrchens ziemlich genau feststellen. Das destillierte Wasser, welches für die Lösung in der Pettenkoferröhre benutzt wurde, mußte, um ein gleichmäßiges Ausgangsmaterial zu haben, stets ausgekocht werden; andernfalls konnten beträchtliche Verschiedenheiten hinsichtlich der Resultate auftreten[1]). Von der komplizierten Einrichtung Blackmanns[2]), die Titration unter Kohlensäureabschluß auszuführen, glaubte ich absehen zu können, da unter konstanten Bedingungen eingefüllt und eine Rücktitration aus später angeführten Gründen (s. S. 211) nicht vorgenommen wurde.

Es wurden immer 220 ccm abgekochten destillierten Wassers benutzt. Diesem Quantum wurden 0,75 ccm $^1/_{40}$ normal Kalkwasser + 7 Tropfen Phenolphtaleinlösung (1 g Phenolphtaleïn + 50 ccm absol. Alkohol + 50 ccm Wasser in einer Tropfflasche) zugesetzt. Das Kalkwasser wurde mit $^1/_{40}$ normal Oxalsäure titriert und der Titer häufig revidiert. Von dieser Lösung gingen 120 ccm in die Pettenkoferröhre; diese Menge besaß also an Kalkwasser

$$\frac{0{,}75 \cdot 120}{220} = \frac{4{,}50}{11} = 0{,}409 \text{ ccm}.$$

Die absorbierte Kohlensäure, welche diese Lösung zu neutralisieren vermag, findet man in Grammen, wenn man diese Zahl durch 40 dividiert und mit dem Kohlensäureaequivalent für 1 ccm der Normalsäure = 0,022 multipliziert. Man erhält

$$\frac{0{,}41 \cdot 0{,}022}{40} = \frac{0{,}00451}{20} = 0{,}0002255 \text{ g} = 0{,}225 \text{ mg}.$$

Der Rest der angerichteten Lösung kam in ein Vergleichsröhrchen von gleichem Querschnitt wie die Pettenkoferröhre und wurde unter Quecksilber gebracht. Bei den späteren Versuchen konnte ich infolge der Übung das Vergleichsröhrchen fortlassen. Mit dieser Lösung habe ich fast stets gearbeitet, da sie für meine Zwecke gerade die geeignete Empfindlichkeit besaß. Sie ist intensiv rot gefärbt und zeigt

[1]) Vesterberg, Titrimetrische Bestimmung von Kohlensäure. Zeitschrift für physikal. Chemie, Bd. 70.

[2]) F. F. Blackmann, Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration. Nr. I, Philosophical Transactions, S. 485 (1895). u. Annals of Botany Vol. IX, S. 101.

schon minimale Spuren von Kohlensäure durch einen verschleierten Farbton lange vor der Neutralisation an.

Es kamen immer rund 7 g lufttrockene Samen in das Respirationsgefäß. Die auf dieses Gewicht entfallende Zahl kann man sich leicht aus dem angegebenen Korngewicht berechnen; sie steigt also, je leichter die Samen sind. So kamen von Brassica 1750 auf dieses Gewicht, von Weizen etwa 135 Stück.

Irgend welche Periodizitäten (vergl. z. B. Arthur Meyer und Nicolas Deleano in Zeitschrift für Botanik, III. Jahrg., 10. Heft 1911 und die dort angeführte Literatur) waren in diesen Keimungsstadien nicht zu berücksichtigen. Da der Wasserthermostat den Lichteinfluß ausschaltete, fielen auch die dadurch etwa hervorgerufenen Komplikationen um so eher hinweg, als die Versuche höchstens auf 48 Stunden ausgedehnt wurden und dann in diesen Fällen die betreffende Wasseraufnahme so gering war, daß von einer intensiveren Lebenstätigkeit nicht die Rede sein konnte. Ganz anders liegen natürlich die Verhältnisse, wenn man mit einigen Tagen alten Keimlingen operiert, wo man z. B. auch den Einfluß der Laboratoriumsluft zu berücksichtigen hat. Die Samen scheinen in den von mir untersuchten frühen Quellungsstadien noch recht unempfindlich zu sein, wie die späteren Versuche zeigen werden.

Lufttrockene Samen geben nur so minimale Spuren von Kohlensäure ab, daß es mit Hilfe der üblichen (Pettenkofer-, Kaliapparat-) Methoden und auch der meinen in kürzeren Zeiträumen nicht möglich ist, diese Ausscheidung festzustellen. Es kam nun darauf an, den Zeitpunkt festzulegen, wo eine merkliche Steigerung der Kohlensäureproduktion einsetzt, die man als ein Verlassen des Ruhestadiums, als eine Äußerung des neu erwachenden Lebens ansehen kann. Dazu mußten die lufttrockenen Samen erst gewisse Mengen an Wasser aufnehmen.

Es bot anfangs Schwierigkeiten, wie den Samen das Wasser zur Aufnahme geboten werden sollte. Feuchter Sand und Erde eigneten sich schon aus technischen Rücksichten nicht; andererseits gaben Hobelspäne, Fließpapier und Filz mit Wasser befeuchtet schon nach relativ kurzer Zeit (2 Stunden) beträchtliche Kohlensäuremengen ab. Ob diese Erscheinung auf Absorption oder auf Tätigkeit von Mikroorganismen oder der Wirkung beider beruhte, wurde nicht näher untersucht. Am besten eigneten sich feuchte Leinenlappen, die vor jedem Versuche regelmäßig mindestens 15 Minuten lang ausgekocht wurden, um die anhaftenden Keime und Kohlensäuremengen, auch häufig zurückgebliebene Stoffe von vorhergegangenen Versuchen möglichst zu beseitigen und unschädlich zu machen. Wurden sie z. B. nur unter der Wasserleitung gesäubert, so zeigten sie eine deutliche

Kohlensäureabgabe. Die Samen wurden schnell in die frisch ausgekochten und infolge der Verdunstungskälte rasch abkühlenden Lappen eingewickelt und in ein Glaskörbchen gesetzt. Dieses war überall, besonders auch unten von großen Löchern durchbohrt, so daß die Luft ungehindert durchstreichen konnte, und paßte gerade in das Respirationsgefäß. Nun wurde der Deckel schnell aufgesetzt und mit Gewichten belastet, um einem eventuellen Hochgehen desselben durch den ziemlich starken Innendruck vorzubeugen, was besonders leicht bei hohen Temperaturen, wo das zwischen dem Schliffe befindliche Gemisch von Fett und Quecksilber flüssig wurde, hätte eintreten können.

Die Vorperiode.

Hierauf wurde 20—30 Minuten vorgepumpt. Diese relativ kurze Zeit genügte vollständig dazu, den Apparat von der beim Beschicken in ihn mit hineingelangten atmosphärischen Kohlensäure zu befreien, besonders wenn er lange genug vorher, z. B. bei Vorversuchen, in Gang gehalten war; diese Zeit war auch nötig, damit die Samen die gewünschte Untersuchungstemperatur annehmen konnten. Denn nach den thermoelektrischen Versuchen von Kuyper[1]), welcher in ähnlicher Richtung mit jungen Keimlingen operierte, genügen dazu ungefähr 12 Minuten, da besonders mit kleinen Samen und mit relativ geringen Mengen gearbeitet wurde, so daß nicht etwa die inneren von den peripherisch liegenden Samen an der Temperaturanpassung gehindert wurden. Länger als 20 Minuten brauchte nicht wegen der geringen Dimension des Respirationsraumes vorgepumpt zu werden, wie Dichtigkeitsversuche von 30 Stunden anzeigten. Vielleicht waren am Schluß der Vorperiode zwar noch äußerste Spuren von Kohlensäure im Apparat, diese vermochten aber nicht mehr eine Entfärbung der Phenolphtaleïnlösung herbeizuführen. Theoretisch könnte man ja durch das Vorpumpen nie einen völlig kohlensäurefreien Raum erzielen. In der Praxis spielen aber solche Restspuren gegenüber den unvermeidlichen Fehlern (beim Einfüllen der Reaktionslösung) keine Rolle.

Viel länger als 20 Minuten durfte auch nicht vorgepumpt werden, da besonders bei hohen Temperaturen die Samen ev. schon merklich geatmet hätten und die dabei produzierte Kohlensäure für die Reaktionsgeschwindigkeit der „Anfangsatmung" verloren gegangen wäre. Bei tiefen Temperaturen wurde das Vorpumpen länger ausgedehnt, da ja bei niederen Wärmegraden die Kohlensäure schwerer auszutreiben ist. Hier durfte auch längere Zeit darauf verwandt werden wegen der sehr langsamen Wasseraufnahme: in einer Stunde wurden

[1]) J. Kuyper, Über den Einfluß der Temperatur auf die Atmung der höheren Pflanzen. Recueil des Trav. bot. néerlandais VII. 1910.

bei + ½° C von Weizen (Sorte: Blaue Dame) nur 0,54% Wasser aufgenommen, also die Fruchtschale wohl gerade imprägniert.

Dichtigkeitsversuche von längerer Dauer (6—48 Stunden) wurden oft zwischen den einzelnen Untersuchungen vorgenommen, und zwar befanden sich dabei die ausgekochten Lappen im Apparat.

b. Das Untersuchungsmaterial.

Als Untersuchungsmaterial dienten die verschiedensten mono- und dicotylen Samenarten. Es mußte bei der Wahl darauf gesehen werden, eine große Anzahl von Individuen bei jedem Versuche benutzen zu können, um etwa vorhandene Individualcharaktere[1]) und andere Komplikationen zu unterdrücken, wie sie durch die Lage der Samen zur aufzunehmenden Feuchtigkeit hervorgerufen werden können. Versuche mit großen Samen (Vicia Faba, Lupinus albus) zeigten dies. Auch schmiegen sich kleine Samen, die ich so für die relativ geringe Maßeinheit von 7 g wählen mußte, viel leichter den befeuchtenden Lappen an, nehmen so schneller Wasser auf, und es besteht dadurch von vornherein die große Wahrscheinlichkeit, daß sie um so eher mit ihrer gesteigerten Kohlensäureausscheidung beginnen und einen Umschlag in der Pettenkoferröhre herbeiführen werden.

Alle Samen keimten gut bis auf die absichtlich zum Vergleich herangezogenen Dattelkerne.

Lange Zeit operierte ich mit Weizen, der mir nebst Analysen vom hiesigen landw. Institut gütigst zur Verfügung gestellt war[2]). Dieser eignet sich gut für derartige Versuche, und auch frühere Autoren haben vielfach mit diesem Material gearbeitet.

Ferner wurden Helianthus annuus, Lupinus nanus, Ervum Lens, Trigonella Foenum graecum, Brassica Napus, Ricinus Gibsoni und Phoenix dactylifera untersucht. Diese bezog ich von einer hiesigen Samenhandlung. Welche Gesichtspunkte bei der Wahl dieses Materials leiteten, wird, um Wiederholungen zu vermeiden, bei der Einzelbesprechung angegeben werden.

Außer bei den Zucker- und Diastasebestimmungen wurde absichtlich, um jede Reizwirkung zu vermeiden, nur mit ganzen Samen gearbeitet.

Bis auf diejenigen Werte, wo es besonders vermerkt ist, wurde die prozentuale Wasseraufnahme auf das Gewicht lufttrockner Samen bezogen, wobei allerdings nicht dem Gewichtsverlust durch die

---

[1]) Nobbe (Handbuch der Samenkunde) und Detmer (Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses der Samen, Jena 1880) behandeln z. B. den Einfluß der Individualität und der Testa der Samen auf den Quellungsprozeß.

[2]) Dafür möchte ich an dieser Stelle nochmals Herrn Geh. Rat Wohltmann meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Kohlensäureabgabe. Die Samen wurden schnell in die frisch ausgekochten und infolge der Verdunstungskälte rasch abkühlenden Lappen eingewickelt und in ein Glaskörbchen gesetzt. Dieses war überall, besonders auch unten von großen Löchern durchbohrt, so daß die Luft ungehindert durchstreichen konnte, und paßte gerade in das Respirationsgefäß. Nun wurde der Deckel schnell aufgesetzt und mit Gewichten belastet, um einem eventuellen Hochgehen desselben durch den ziemlich starken Innendruck vorzubeugen, was besonders leicht bei hohen Temperaturen, wo das zwischen dem Schliffe befindliche Gemisch von Fett und Quecksilber flüssig wurde, hätte eintreten können.

Die Vorperiode.

Hierauf wurde 20—30 Minuten vorgepumpt. Diese relativ kurze Zeit genügte vollständig dazu, den Apparat von der beim Beschicken in ihn mit hineingelangten atmosphärischen Kohlensäure zu befreien, besonders wenn er lange genug vorher, z. B. bei Vorversuchen, in Gang gehalten war; diese Zeit war auch nötig, damit die Samen die gewünschte Untersuchungstemperatur annehmen konnten. Denn nach den thermoelektrischen Versuchen von Kuyper[1]), welcher in ähnlicher Richtung mit jungen Keimlingen operierte, genügen dazu ungefähr 12 Minuten, da besonders mit kleinen Samen und mit relativ geringen Mengen gearbeitet wurde, so daß nicht etwa die inneren von den peripherisch liegenden Samen an der Temperaturanpassung gehindert wurden. Länger als 20 Minuten brauchte nicht wegen der geringen Dimension des Respirationsraumes vorgepumpt zu werden, wie Dichtigkeitsversuche von 30 Stunden anzeigten. Vielleicht waren am Schluß der Vorperiode zwar noch äußerste Spuren von Kohlensäure im Apparat, diese vermochten aber nicht mehr eine Entfärbung der Phenolphtaleïnlösung herbeizuführen. Theoretisch könnte man ja durch das Vorpumpen nie einen völlig kohlensäurefreien Raum erzielen. In der Praxis spielen aber solche Restspuren gegenüber den unvermeidlichen Fehlern (beim Einfüllen der Reaktionslösung) keine Rolle.

Viel länger als 20 Minuten durfte auch nicht vorgepumpt werden, da besonders bei hohen Temperaturen die Samen ev. schon merklich geatmet hätten und die dabei produzierte Kohlensäure für die Reaktionsgeschwindigkeit der „Anfangsatmung“ verloren gegangen wäre. Bei tiefen Temperaturen wurde das Vorpumpen länger ausgedehnt, da ja bei niederen Wärmegraden die Kohlensäure schwerer auszutreiben ist. Hier durfte auch längere Zeit darauf verwandt werden wegen der sehr langsamen Wasseraufnahme: in einer Stunde wurden

[1]) J. Kuyper, Über den Einfluß der Temperatur auf die Atmung der höheren Pflanzen. Recueil des Trav. bot. néerlandais VII. 1910.

bei + ½° C von Weizen (Sorte: Blaue Dame) nur 0,54% Wasser aufgenommen, also die Fruchtschale wohl gerade imprägniert.

Dichtigkeitsversuche von längerer Dauer (6—48 Stunden) wurden oft zwischen den einzelnen Untersuchungen vorgenommen, und zwar befanden sich dabei die ausgekochten Lappen im Apparat.

b. Das Untersuchungsmaterial.

Als Untersuchungsmaterial dienten die verschiedensten mono- und dicotylen Samenarten. Es mußte bei der Wahl darauf gesehen werden, eine große Anzahl von Individuen bei jedem Versuche benutzen zu können, um etwa vorhandene Individualcharaktere[1]) und andere Komplikationen zu unterdrücken, wie sie durch die Lage der Samen zur aufzunehmenden Feuchtigkeit hervorgerufen werden können. Versuche mit großen Samen (Vicia Faba, Lupinus albus) zeigten dies. Auch schmiegen sich kleine Samen, die ich so für die relativ geringe Maßeinheit von 7 g wählen mußte, viel leichter den befeuchtenden Lappen an, nehmen so schneller Wasser auf, und es besteht dadurch von vornherein die große Wahrscheinlichkeit, daß sie um so eher mit ihrer gesteigerten Kohlensäureausscheidung beginnen und einen Umschlag in der Pettenkoferröhre herbeiführen werden.

Alle Samen keimten gut bis auf die absichtlich zum Vergleich herangezogenen Dattelkerne.

Lange Zeit operierte ich mit Weizen, der mir nebst Analysen vom hiesigen landw. Institut gütigst zur Verfügung gestellt war[2]). Dieser eignet sich gut für derartige Versuche, und auch frühere Autoren haben vielfach mit diesem Material gearbeitet.

Ferner wurden Helianthus annuus, Lupinus nanus, Ervum Lens, Trigonella Foenum graecum, Brassica Napus, Ricinus Gibsoni und Phoenix dactylifera untersucht. Diese bezog ich von einer hiesigen Samenhandlung. Welche Gesichtspunkte bei der Wahl dieses Materials leiteten, wird, um Wiederholungen zu vermeiden, bei der Einzelbesprechung angegeben werden.

Außer bei den Zucker- und Diastasebestimmungen wurde absichtlich, um jede Reizwirkung zu vermeiden, nur mit ganzen Samen gearbeitet.

Bis auf diejenigen Werte, wo es besonders vermerkt ist, wurde die prozentuale Wasseraufnahme auf das Gewicht lufttrockner Samen bezogen, wobei allerdings nicht dem Gewichtsverlust durch die

---

[1]) Nobbe (Handbuch der Samenkunde) und Detmer (Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses der Samen, Jena 1880) behandeln z. B. den Einfluß der Individualität und der Testa der Samen auf den Quellungsprozeß.

[2]) Dafür möchte ich an dieser Stelle nochmals Herrn Geh. Rat Wohltmann meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Alle diese Erörterungen sprechen also dafür, daß die in der Reaktion der Phenolphtaleïnlösung festgestellte Kohlensäure auch wirklich von den Samen produziert wird.

b. Atmung lufttrockner Samen.

Untersucht man mittels der üblichen Methoden die Kohlensäureausscheidung von lufttrocknen Samen, so gelingt es nicht, eine solche nachzuweisen. Daher mag es auch kommen, daß man bis in neuere Zeit an einer solchen Kohlensäureproduktion überhaupt gezweifelt hat[1]) und den Beginn der Kohlensäureabgabe sowie einer merklichen Steigerung der Sauerstoffaufnahme mehr an den Schluß der Quellung verlegte. Manche Autoren schwankten in ihrer Stellungnahme dazu; andere konnten sich nicht vorstellen, daß die Atmung nach vollendeter Reife völlig sistiert werden und dann bei der Keimung neu erstehen sollte. Auch ruhende Kartoffeln etc. zeigen ja eine Kohlensäureausscheidung. Detmer[2]) war z. B. der Ansicht, daß die Atmungsprozesse in lufttrocknen Samen so langsam verlaufen, daß man sie nicht nachweisen kann. Demnach müssen also große Kornmassen nach und nach an Gewicht verlieren, was auch festgestellt werden konnte[3]). Man hätte so von dem Verlust an Trockensubstanz, der Temperatur und Zeit ganz gut auf die Atmungsintensität schließen können, eine Methode, wie sie Ad. Mayer[4]) bei seinen Atmungsversuchen mit keimendem Weizen verwandte.

Eine endgültige Lösung hat Kolkwitz[5]) in seiner Untersuchung „Über die Atmung der Gerstenkörner" gebracht. Er führt meines Wissens auch zum ersten Male zahlenmäßige Belege für den Atmungsbetrag ruhender Samen an, welche er mit Hilfe einer ganz eigenartigen Methode feststellte. Er sammelte in einem zugeschmolzenen Gefäß, in welchem sich eine große Menge Samen befanden, durch längeres Aufbewahren bei konstanter Temperatur die exhalierte Kohlensäure an, ließ sie von Barytlauge absorbieren und stellte dann deren Titer fest. Danach wurden von 1 kg lufttrockner Samen bei einem Feuchtigkeitsgehalt von 10 bis 12% innerhalb 24 Stunden 0,3 bis 0,4 mg Kohlensäure abgegeben. Wir müssen dabei wohl annehmen, daß auch das Endosperm am Leben ist[6]) und atmet, wenn auch der Embryo

[1]) z. B. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl. 1897, I, S. 576.

[2]) W. Detmer, Über die Einwirkung verschiedener Gase auf Pflanzenzellen. Landw. Jahrb. 1882, 11, S. 229.

[3]) A. Müntz, Sur la Conservation des grains par l'ensilage. Compt. rend. 1881, T. XCII, S. 137 u. 97. [4]) A. Mayer, l. c.

[5]) R. Kolkwitz, l. c., und: Über die Atmung ruhender Samen. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. Bd. 19, S. 285, 1901.

[6]) Hansteen und Pfeffer, Über die Ursache der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. Flora Erg. Bd. 79 (1894).

im Vergleich dazu bedeutend intensiver Kohlensäure ausscheidet[1]). Um einen Begriff von dieser äußerst minimalen Kohlensäureabgabe zu bekommen, muß man sich vorstellen, daß ein Apparat, welcher schon auf 0,2 mg Kohlensäure reagiert, wie der meine, etwa 50 Tage ununterbrochen in Betrieb gehalten werden müßte, um mit Sicherheit anzuzeigen, daß 10 g lufttrockne Samen atmen. Wenn daher verschiedene bedeutende Forscher eine Atmung lufttrockner Samen in Abrede stellten, so ist dies daraus zu verstehen. Ebenso war näheres über den zeitlichen Beginn und die Art und Weise einer Atmungssteigerung bei quellenden Samen bisher nicht bekannt. Deshalb wendete ich meine Aufmerksamkeit diesen Fragen zu und suchte festzustellen, welchen Einfluß die Temperatur sowie die Art der Wasseraufnahme und der Reservestoffe auf dieses Einsetzen ausüben.

Kolkwitz[2]) teilt in seiner Arbeit noch mit, daß ein Feuchtigkeitsgehalt von etwa 15 bis 16%, bezogen auf Trockengewicht, einen Wendepunkt in der Konsistenz des Gerstensamens bezeichnete, und daß auch damit die Atmungskurve intensiv zu steigen anfinge.

Zunächst stellte ich wiederholt Versuche mit lufttrocknen Samen von Lupinus albus, Helianthus und Triticum an, konnte aber, wie es ja nach den Befunden von Kolkwitz vorauszusehen war, bei der geringen Samenmenge nicht die geringste Entfärbung an der Reaktionslösung konstatieren. Auch ein sechsstündiger Versuch bei 50° zeigte noch keine Kohlensäureausscheidung. Hierbei ist aber zu bemerken, daß meine Samen, welche in einem Laboratoriumsschrank lagerten, einen sehr geringen Feuchtigkeitsgrad besaßen. Er betrug bei lufttrocknen Weizenkörnern (Blaue Dame) nur 6,637% bezogen auf Trockengewicht. Zur Bestimmung wurden 10,020 g lufttrockene Weizenkörner bei 90° 5/4 Stunden lang im Trockenschrank getrocknet und kamen dann 8 Tage in einen Exsiccator. Sie wogen danach 9,355 g. Also beträgt die Gewichtsabnahme 0,665 g, und man erhält den oben angegebenen Feuchtigkeitsgrad von 6,64% für lufttrocknen Weizen. (Von diesen getrockneten Weizenkörnern keimte in einem Monat nicht eines aus.) Bei diesem geringen Wassergehalt würde es natürlich noch viel schwieriger sein, eine merkliche Kohlensäureausscheidung nachzuweisen.

c. Erste merkliche Kohlensäureabgabe — Schwellenwerte.

Die Kohlensäureabgabe lufttrockner Samen verläuft also so schwach, daß man sie nur auf Umwegen feststellen kann. Um auf

[1]) C. Burlakow, Über die Atmung des Keimes des Weizens. Arb. der Naturf. Gesellschaft der Kaiserl. Univ. zu Charkow XXXI. 1897, Beilage S. I-XV.

[2]) R. Kolkwitz, l. c.

direkt experimentellem Wege eine Kohlensäureproduktion während des Versuches beobachten zu können, muß man Samen mit höherem Feuchtigkeitsgehalte benutzen. Ich wollte nun denjenigen Feuchtigkeitsgrad bestimmen, wo man gerade eine merkliche Kohlensäureabgabe feststellen kann.

Für diese Untersuchungen ließ ich die Samen etwas Wasser von nassem Fließpapier aufnehmen und brachte sie dann, ohne sie in die feuchten Lappen zu wickeln, in den Apparat. Die Lappen kamen jedoch, wenn auch von den Samen getrennt — sie lagen ebenfalls in dem Glaskörbchen, ein Lappen unter, einer über dem Samen, von diesen durch Glasplatten gesondert — gleichfalls mit in den Apparat, da sonst den Samen bei höheren Temperaturen aus physikalischen Gründen Feuchtigkeit entzogen wurde. Denn die durchgedrückte Luft passiert die vorgeschalteten Waschflaschen bei Zimmertemperatur und ist deshalb bei der Thermostatentemperatur weit vom Taupunkt. Der mitgenommene Wasserdampf kondensiert sich dann an den kälteren Teilen nach Verlassen des geheizten Wasserthermostaten. So wird dem Respirationsraum Feuchtigkeit entzogen. Bei derartigen „Schwellenversuchen", wie ich sie zur Festlegung des gesuchten Feuchtigkeitsgrades anstellen mußte, ist es natürlich von größtem Interesse, daß der prozentuale Wassergehalt, den die Samen beim Einbringen in den Apparat besaßen, gewahrt wird. Denn einen Schwellenwert kann man nur so bestimmen, daß man darüber und darunter liegende feste Werte, in diesem Falle Feuchtigkeitsgrade mit und ohne merklicher Kohlensäureabgabe immer mehr einander nähert.

Die in den hier angeführten Versuchen auftretenden geringen prozentualen Schwankungen liegen wohl innerhalb der Fehlergrenze der nicht leicht einheitlich zu bestimmenden Wägungen.

Tab. II. Schwellenversuche mit Weizen.

(Blaue Dame.)

Datum	Aufn.-Temp.	Gewichtszunahme in %		Im Apparat		Temp.	Resultat
		vor Versuch	nach Versuch	Vorperiode	Umschlag		
1.XII.	29°	8,9%	9,3%	12^{32}-12^{52}	8^{12}	18,5°	Umschlag
6.XI.	25°	8,6	8,3	11^{7}-11^{27}	2^{15}	30°	=
13.XI.	28°	5,7	6,0	9^{30}-10^{0}	10^{55}	50°	=
6.XI.	25°	4,7	4,3	10^{26}-10^{46}	12^{6}	50°	=
24.XI.	29°	3,9	4,1	11^{37}-11^{57}	3^{40}	37°	=
23.XI.	29°	3,7	3,7	9^{52}-10^{12}	4^{20}	25°	nur schwache Entfärb.
16.XI.	27°	3,6	3,4	10^{15}-10^{28}	2^{30}	45°	noch keine Entfärb.

Man sieht aus diesen Versuchen, daß es äußerst schwierig ist, einen bestimmten Feuchtigkeitsgehalt im Apparat bei den verschiedenen

Temperaturen konstant zu halten. Dabei ist auch zu berücksichtigen, daß hier wie bei allen angeführten Daten ein geringes Schwanken in der zweiten Dezimale der Gewichtszunahme auf die prozentuale Änderung einen großen Einfluß ausübt; darum sind auch die Gewichtsprozente nur auf eine Dezimale angegeben.

Die erste merkliche Kohlensäureabgabe bekam ich, wenn ich Weizensamen (Sorte Blaue Dame) mit etwa 4% Feuchtigkeitsgehalt bezogen auf lufttrockene Samen in den Apparat brachte, d. h. mit 11,3% bezogen auf Trockensubstanz. Bei diesen Untersuchungen wurden vorzugsweise hohe Temperaturen benutzt, um die mit diesem Feuchtigkeitsgrade Hand in Hand gehende Atmungsintensität möglichst zu steigern und so recht klar vor Augen zu führen. Die schädigende Wirkung höherer Temperaturen tritt in diesem Quellungsstadium nur sehr langsam ein (s. S. 34). Unter diesem Betrage von 4% Wasseraufnahme war eine Atmung und eine Steigerung der Kohlensäureproduktion gerade noch an dem etwas Blasserwerden der Lösung zu bemerken. War dieser Wert aber erreicht, so konnte man deutlich eine, wenn auch noch schwache Kohlensäureabgabe nachweisen.

Streng genommen bestimmt der Wert von etwa 4% Wasseraufnahme keine Schwelle, da ja auch darunter bei genügender Dauer der Versuche Atmung festgestellt werden könnte. Es ist mehr, wie Kolkwitz sagt, ein Wendepunkt der Atmungskurve bei steigendem Wassergehalt. Die hier für Weizen bei einem Feuchtigkeitsgrade von 11,5% festgestellte Atmungssteigerung entspricht offenbar der von Kolkwitz beobachteten bei 15% für Gerste (beides bezogen auf Trockengewicht). Auch für Helianthuskerne wurde dieser Wendepunkt bestimmt; er lag zwischen 4,5 und 8, also etwa bei 6% bezogen auf das lufttrockene Material.

Tab. III. **Helianthuskerne.**

Datum	Gewichtszunahme	Endgewicht	in %	Im Apparat	Temp	Resultat
30. V.	4,00—4,77	4,75	19 %	8^{55}—10^{55}	20°	Umschlag
31. V.	4,05—4,50	4,48	11	6^{30}— 8^{45}	20°	„
31. V.	4,00—4,18	4,18	4,5	10^{0} — 2^{30}	20°	kaum Entfärbung
2. VI.	4,00—4,32	4,32	8,0	9^{20}—10^{25}	20°	Umschlag

Rücktitrieren war bei so minimalen Spuren von Atmung nicht möglich, wollte man nicht durch die dabei mitspielenden Fehler ein falsches Bild von der Atmungsintensität bekommen. In diesem Stadium der „Quellung“ zeigt die Atmung noch recht geringe Energie. Man kann die ausgeschiedenen Kohlensäuremengen zwar mit größerer Deutlichkeit im Vergleich zu der Atmung trockner Samen feststellen,

aber die richtige Lebenskraft scheint noch zu fehlen, der junge Keim scheint noch nicht die Führung über die gesamte Lebenstätigkeit übernommen zu haben.

Um das Verhalten der Kohlensäureausscheidung bei weiterer Wasseraufnahme, so zu sagen, unter natürlichen Bedingungen zu beobachten, wurden die Samen in die ausgekochten feuchten Lappen gepackt, sodaß sie nun im Apparat Wasser aufnehmen konnten.

d. Wasseraufnahme.

Bezüglich der Wasseraufnahme will ich mich kurz fassen, da ja dieses Gebiet hinlänglich bearbeitet ist.

Bei längerem Verweilen in dampfgesättigter Atmosphäre absorbieren zwar die Samen eine gewisse Menge von Wasser, doch vermag diese noch nicht eine Keimung zu veranlassen. Man muß bei derartigen Versuchen natürlich Temperaturschwankungen vermeiden, um Kondensation auszuschließen. Einige Samen von Lupinus albus, welche sich in einer feuchten Kammer auf trockener Unterlage befanden, wurden bei Zimmertemperatar in einen gut wärmeisolierten Raum gestellt. Ein Same war beim Aufsetzen der Glasglocke der feuchten Kammer von einem Wassertropfen benetzt worden. Dieser Same keimte, wenn auch sehr langsam, aus. Die übrigen Samen strafften sich zwar, faulten aber nach einiger Zeit. Man hätte die Samen unter sterilen Verhältnissen keimen lassen und dazu etwa einen Apparat benutzen müssen, wie ihn W. Polowzow[1]) für derartige Zwecke konstruierte.

Nach allen bisherigen Versuchen scheint sich nur zu ergeben, daß Samen wohl Wasser verdichten können, daß dieser Betrag aber nicht hinreicht, die Entfaltung des Embryo zu ermöglichen, vielmehr zur Keimung tropfbar flüssiges Wasser nötig ist; Nobbe[2]) geht noch weiter und meint, daß die im freien Boden obwaltenden Temperaturschwankungen scheinbar nicht geeignet sind, die Kondensation und die Aufnahme des in der Bodenluft suspendierten Wasserdampfes durch Samen zu befördern und mangelnde Bodennässe zu kompensieren.

Das Minimum der zur Keimung erforderlichen Wassermenge wurde von Kleemann[3]) untersucht: es ist bei den einzelnen Samenarten verschieden, so daß bei einem gewissen Prozentgehalt an Wasser eine Samenart (z. B. Getreide) schon zu keinem vermag, während eine andere (besonders Leguminosensamen) dem Verderben anheimfällt. Eine ebensolche Verschiedenheit besteht hinsichtlich der Wasser-

[1]) W. Polowzow, Untersuchungen über die Pflanzenatmung. Mémoires de l'Acad. des scienc. de St. Petersbourg VIII. série, T. 12, Nr. 7, 1901.

[2]) Nobbe, Handbuch der Samenkunde. Berlin 1876.

[3]) Kleemann, Inaug.-Diss. und Preisaufgabe. München 1905.

kapazität (Quellungskapazität Detmers), d. h. des maximalen Betrages an Wasser, den ein Same aufzunehmen vermag. Mit einer größeren Wasserkapazität (z. B. Erbsen im Vergleich zu den Cerealien) geht dann auch eine raschere Aufnahmefähigkeit Hand in Hand[1]). Nach R. Hoffmann[2]) beträgt die Wasseraufnahme bis zur Entwicklung des Wurzelkeims für Weizen 45,5%

Linse 93,4%

Raps 51,0%

Helianthus 56,5%

Lupine (nach Siewert, Versuchsstat. XII. 307) 100—130% Wasser. Im allgemeinen scheinen die harz- und ölhaltigen Samen sowie die Cerealien die geringste, die Leguminosen die höchste Kapazität für tropfbar flüssiges Wasser zu besitzen[3]).

Eine einheitliche Samenart wird aber unter gleichen Verhältnissen durchschnittlich immer dasselbe Bild der Wasseraufnahmekurven zeigen, und so wird zu erwarten sein, daß unter gleichen Bedingungen die Samen immer nach einer bestimmten Zeit ein bestimmtes Quantum Wasser aufgenommen haben, sodaß man etwa einen Feuchtigkeitsgehalt erhält, bei dem die Atmungskurve ein charakteristisches Bild zeigt. Die Zeitdauer wird je nach der Temperatur verschieden sein, und zwar mit steigender Temperatur kürzer, da die Wasseraufnahme um so schneller verläuft, je höher die Aufnahmetemperatur liegt. Es werden also die entsprechenden Quellungsstadien früher erreicht.

Die Tabellen[4]) zeigen dies näher!

Tab. IV. **Pisum sativum.**

Nach	17,5°	24,4°	31,2°
1 Std.	0,62%	0,73%	0,87%
2 „	1,24	1,95	2,24
3 „	2,61	2,93	4,48
4 „	3,10	4,15	6,22
5 „	—	—	—
6 „	5,84	7,32	10,45
7 „	7,08	8,54	12,44
8 „	8,07	10,24	14,93
9 „	10,56	11,46	16,91
10 „	11,55	13,41	18,15
11 „	13,04	14,63	20,40
24 „	30,43	33,41	44,53

Tab. V. **Lupinus albus.**

Nach	17,5°	24,4°	31,2°
1 Std.	0,81%	0,69%	2,27%
2 „	2,19	2,78	5,00
3 „	3,57	4,39	7,27
4 „	5,41	6,48	9,09
5 „	—	—	—
6 „	7,96	8,79	13,64
7 „	9,34	10,18	16,14
8 „	10,26	11,57	18,18
9 „	12,34	13,43	21,59
10 „	13,03	14,58	23,18
11 „	15,34	15,70	26,13
24 „	30,79	35,42	52,96

[1]) Eberhard, Untersuchungen über das Vorquellen der Samen. Diss. Jena 1906.

[2]) Hoffmann, Landw. Versuchsstat. VII. 47.

[3]) Vergl. Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905.

[4]) Vergl. dazu die Wasseraufnahmekurven.

Tab. VI. **Triticum vulgare.**

Nach	17,5°	24,4°	31,2°
1 Std.	2,62%	3,10%	2,85%
2 „	5,13	7,82	6,32
3 „	7,13	8,82	9,05
4 „	8,88	10,56	11,55
5 „	—	—	—
6 „	12,14	13,54	15,71
7 „	14,15	15,53	17,72
8 „	16,14	16,77	18,96
9 „	16,89	18,01	21,68
10 „	18,15	19,50	22,67
11 „	19,65	20,99	23,97
24 „	30,16	32,17	35,57

Tab. VII. **Vicia Faba maior.**

Nach	17,5°	24,4°	31,2°
1 Std.	0,09%	0,10%	0,68%
2 „	0,19	0,30	1,48
3 „	0,39	0,60	2,28
4 „	—	—	—
5 „	0,58	1,60	5,03
6 „	1,17	2,41	6,17
7 „	1,27	2,81	7,09
8 „	1,46	3,32	9,15
9 „	1,56	4,22	11,52
10 „	1,76	5,03	12,35
24 „	7,81	20,12	27,00

Es wurden immer dieselben Portionen gewogen. Die Samen lagen zur Wasseraufnahme auf nassem Fließpapier in feuchter Kammer. Es sind dies trotz der gleichen Versuchsanstellung doch keine einheitlichen Aufnahmebedingungen: sie sind in diesem Falle günstig für kleine Samen, da diese am meisten Aussicht haben, mit ihren wasseraufsaugenden Organen, Nabel und Mikropyle, sich der Feuchtigkeit anzuschmiegen und so mit Wasser zu imbibieren[1]; auch kommt ein relativ viel größerer Teil der Oberfläche der Einzelsamen mit dem Quellungswasser in direkte Berührung. Anders liegen die Verhältnisse bei großen Samen, wie Vicia Faba, wo die Eintrittsstelle des Wassers in den Samen seitlich in die Luft ragt und nicht direkt von dem Wasser benetzt wird. Daher kommt es auch, daß bei derartiger Versuchsanordnung die Erbsen, welche im Vergleich zu den Cerealien eine größere Wasserkapazität besitzen, in den ersten Stunden langsamer Wasser aufnehmen als die zahlreicheren und kleineren Weizenkörner.

Um daher einheitlichere Aufnahmebedingungen zu schaffen, wurden die Samen in nasse Lappen gewickelt, wo ihnen allseitig Feuchtigkeit geboten wurde. So wurde mit Trigonella Foenum graecum verfahren:

Tab. VIII. **Trigonella Foen. graec.**

Nach	29,2°	40,8°	55,6°
1 Std.	4,43%	13,14%	27,14%
2½ „	17,00	34,14	52,43
4 „	33,00	53,57	80,57
5½ „	51,00	68,87	106,00
7 „	62,14	84,28	122,14
8½ „	78,57	98,86	137,14

[1]) Vergl. hierzu G. Haberlandt, Schutzeinrichtungen d. Keimpflanze. Wien 1877.

Trigonella mit seiner Schleimschale und seinem Schleimendosperm zeigt also den Unterschied in der Schnelligkeit der Wasseraufnahme bei den verschiedenen Temperaturen in den ersten Stunden recht gut. Die Wasseraufnahme wird aber durch die sie unterbrechenden Wägungen sehr gestört, so daß man die hier gefundenen Werte nicht ohne weiteres mit denjenigen vergleichen kann, welche ich bei denselben Zeiten und Temperaturen bei meinen Atmungsversuchen (siehe z. B. S. 240) im Atmungsapparat gefunden habe.

Versuche mit Helianthuskernen zeigten, daß auch unter ganz gleichen Bedingungen die Wasseraufnahme etwas verschieden verläuft, so daß also ein bestimmter Feuchtigkeitsgrad nicht immer nach gleicher Dauer erreicht zu sein braucht.

Zwei Tabellen zeigen dies näher; die eine weist eine schlechte, die andere eine sehr gute Übereinstimmung der entsprechenden Feuchtigkeitsgrade auf.

Helianthuskerne.

Tab. IX. 44,8°.

Nach	I.	II.
1 Std.	16,0%	20,75%
2 "	27,75	31,50
3 "	33,75	35,50
4 "	40,00	36,25
5 "	42,50	38,75

Tab. X. 25,5°.

Nach	I.	II.
1 Std.	11,10%	10,0%
2 "	20,64	21,0
3 "	27,61	28,25
4 "	33,58	32,25
5 "	37,31	38,25

Die Differenzen sind im allgemeinen bei höheren Temperaturen nicht größer als bei niederen.

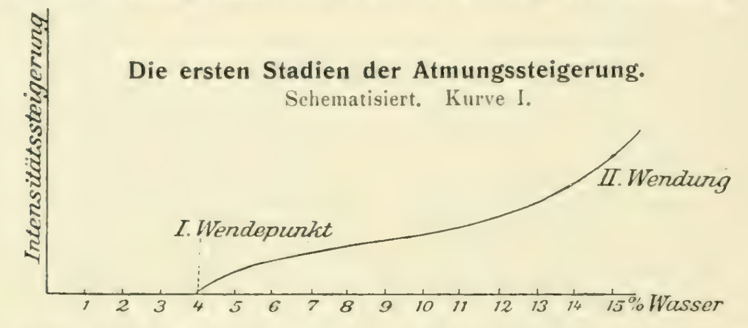
Die Quellung an sich stellt einen rein physikalischen Vorgang dar. Je nach dem Widerstande, der dem Eindringen des Wassers entgegengesetzt wird, findet man eine verschieden schnelle Wasseraufnahme. Diese Schnelligkeit wird z. B. bei Lupinus durch die Pallisadenschicht sehr beeinflußt. Die Menge des im Quellungsprozeß verbrauchten Wassers hängt schon vom Wasserverlust bei der Reife der Samen ab. Auch der verschiedene Klebergehalt bedingt ein verschiedenes Wasserbedürfnis[1]) (vergl. S. 228). Daß die Quellung rein physikalisch wirkt, kann man z. B. daraus ersehen, daß mit Toluol wirklich (s. S. 243) abgetötete Samen in ihrer Quellung nicht behindert werden, die sogar häufig so weit geht, daß die Samenschale aufplatzt. Wir haben gleichwohl anzunehmen, daß bei keimfähigen Samen schon während des Quellungsstadiums die Radicula mit ihrem

[1]) Bogdanoff, Ost- und westpreußische Samen. Landw. Versuchsstat. XLII. 1893.

Wachstum beginnt. Denn bald nach dem Erreichen des Quellungsmaximums tritt ja die Wurzel aus dem Samen heraus. Wir müssen also den Beginn der erwachenden Lebenstätigkeit schon in das Quellungsstadium hinein verlegen, und es ist zu vermuten, daß damit die Kohlensäureproduktion bedeutend gesteigert wird. Es ist jedoch die Frage, ob wir bei der Steigerung der Atmungsintensität durch die Wasseraufnahme[1]) bei der Quellung für irgend einen Feuchtigkeitswert eine besonders starke Zunahme der Kohlensäureausscheidung beobachten können.

III. Die ersten Stadien der Steigerung der Kohlensäureabgabe beim quellenden Weizen (Monocotylen).

Bei meinen Untersuchungen mit Weizen bekam ich nun bei einem bestimmten Wassergehalt einen zweiten Wendepunkt, welcher gegen-



über dem zuerst festgestellten (s. S. 211) eine bei weitem stärkere Intensitätssteigerung der Kohlensäureabgabe zeigt. Vor diesem Punkt ist die Kohlensäureproduktion ziemlich schwach[2]) und gegen den Einfluß der Temperatur nicht besonders empfindlich. Ist jedoch dieser zweite kritische Punkt erreicht, so wird die Reaktionsflüssigkeit in der Pettenkoferröhre schnell entfärbt, mag sie auch in stärkerem oder geringerem Grade (in gewissen Grenzen natürlich) basisch gewesen sein. Die Temperatur übt dabei die bekannten Wirkungen auf die Reaktionsgeschwindigkeit aus, wie sie für physiologische Prozesse charakteristisch sind. — Hinsichtlich der Lage dieses Intensitätswendepunktes spielt sie jedoch keine Rolle; diese hängt, wie es scheint, nur vom Wassergehalte ab.

---

[1]) Daß die Atmungsintensität mit dem Wassergehalt steigt, ist ja hinlänglich bekannt. Auch Hellriegel deutet mit großer Bestimmtheit auf eine unmittelbare Abhängigkeit der organischen Produktion von dem Grade der Wasserversorgung hin. Beiträge zu den naturw. Grundlagen des Ackerbaues. Braunschweig 1883, S. 568 ff.

[2]) Sie beträgt für den von Kolkwitz betrachteten Wendepunkt etwa 0,01 mg CO_2 in zwei Stunden für 10 g Material.

a. Grundlegende Versuche mit „Blauer Dame".

Nach einer größeren Anzahl von Vorversuchen mit Lupinus albus, Pisum sativum und Triticum vulgare wurde anfangs nur mit einer bestimmten Weizensorte, der „Blauen Dame", gearbeitet, um einen ganz sicheren Untergrund für weitere Untersuchungen zu bekommen. Es wurde die Temperatur von 5 zu 5 Grad gesteigert, um einen klaren Einblick in die damit verbundene Steigerung der Atmungsintensität zu erhalten. Als untere Grenze waren +5° C. gewählt. Weizen atmet zwar schon bei Temperaturen unter 0°[1]) und keimt auch bereits auf Eis[2]), doch versprach ich mir von solchen Versuchen wegen ihrer langen Dauer wenig. 65° C. wurden als obere Temperaturgrenze angewandt, obwohl es vielleicht ganz interessant gewesen wäre, die Wirkung noch höherer Temperaturen auf die Enzyme zu studieren. Solche Untersuchungen sind aber einerseits an so weit wie möglich isolierten Enzymen im einzelnen schon angestellt, auch hätte bei noch weiterer Steigerung das Untersuchungsmaterial kaum die gewünschte Temperatur in der kurzen Vorperiode annehmen können, die aus oben angeführten Gründen nicht länger ausgedehnt werden durfte; andrerseits waren die Samen sämtlich zwischen 55—60° abgetötet, wenn sie die zur Erreichung des charakteristischen Wendepunktes der Atmungsintensität nötige Wassermenge aufgenommen hatten, wie später angestellte Keimversuche zeigten. Es keimten bei niederen Temperaturen 88%, nach den Versuchen bei 50° noch 31% und bei 55° kaum noch 2%. Man kann daher schwer von einem Temperaturmaximum bei Quellungsversuchen sprechen. Es sind immer vereinzelte Individuen darunter, welche sich durch „Keimverzug", d. h. schwere Quellbarkeit, vor den anderen auszeichnen und so ganz gut höhere Temperaturen überstehen. Der Zeitfaktor spielt bei diesen Untersuchungen mit die wichtigste Rolle[3]).

Bei allen diesen Versuchen konnte ich beobachten, daß die Atmungsintensität auch dann noch zunahm, wenn ich die Temperaturgrenze von noch lebendem zu schon abgetötetem Material überschritt. (Diese Grenze stellt natürlich keinen bestimmten Temperaturgrad dar.) So hat man wohl auch auf Grund dieser Betrachtungen einige Berechtigung dazu, die Atmungstätigkeit nur als die Summe enzymatischer Prozesse aufzufassen (Palladin); dabei kann das Leben

---

[1]) Bis —2° C. nach Detmer, Beobachtungen über die normale Atmung der Pflanzen. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. X. Heft 8, S. 535.

[2]) Uloth, Über die Keimung von Pflanzensamen in Eis. Flora, Jahrg. 54, 1871, S. 185—88.

[3]) Vergleiche hierzu Harper Goodspeed, The temperature coëfficient of the duration of life of barley grains. Bot. Gazette LI. March 1911, S. 220—224.

recht wohl einen Einfluß auf die Energie des Atmungsverlaufes ausüben, wenn auch die Stoffumsetzung nur von Enzymen bewirkt wird. Es ist daher durch die hier angestellten Untersuchungen noch nicht einwandsfrei bewiesen, daß das Einsetzen einer intensiveren Kohlensäureproduktion durch den Beginn der Lebenstätigkeit bedingt ist, wiewohl es wahrscheinlich ist. Denn es ist anzunehmen, daß durch die beginnende Tätigkeit des lebenden Plasmas neue Enzyme gebildet werden, welche eine gesteigerte Dissimilation bewirken. Eingehende Studien über die Mengenverhältnisse der Enzyme könnten hierüber vielleicht mehr Licht verbreiten.

Schon die Quellungsversuche zeigen, daß bei tiefer Temperatur die Wasseraufnahme sehr langsam vor sich geht. Daher ist zu erwarten, daß hier die Atmung im Vergleich zu höheren Temperaturen langsam verlaufen wird. Dies bestätigte ein Versuch bei $+\frac{1}{2}^{0}$ C.

Zwei Portionen Weizen (Blaue Dame) à 7 g kamen, in feuchte Lappen gewickelt, in ein kleines Glasgefäß, welches mit einem Kork verschlossen war, durch den ein Thermometer bis zu den Samen herabreichte. Dieses Gefäß wurde ganz mit Schnee und Eis umpackt und in einen großen Trichter gestellt. Dieser stand 28 Stunden im Eis des Eisschrankes im Keller. Beim Auspacken zeigte das Thermometer wenig über 0^{0} C. Die eine Portion wurde gewogen und zeigte 14,3% Wasseraufnahme, während die andere schnell ohne Lappen in den Apparat II gebracht wurde, dessen Temperatur ebenfalls wenig über 0^{0} war; er stand ganz in Eis gepackt. Nach sieben Stunden war die Lösung in der Pettenkoferröhre durch den sie passierenden Luftstrom hell geworden und zeigte somit deutliche Atmung an.

Auch bei 5^{0} C. dauerten die Wasseraufnahme und somit die Intensitätssteigerung noch recht lange: rund 17 Stunden. Gerade bei dieser langsamen Wasseraufnahme, wo also die einzelnen Feuchtigkeitsgrade langsam durchlaufen werden, konnte man sehen, wie hier die Atmung trotz steigenden Wassergehaltes nur ganz allmählich intensiver wurde. Die niedrige Temperatur schwächt natürlich auch ihrerseits die Atmungsintensität. Erst bei etwa 14—15% Feuchtigkeitsgehalt, bezogen auf lufttrockene Samen, erhielt man eine bemerkenswerte Intensitätssteigerung, sodaß die Phenolphtaleïnlösung relativ bald, wenn auch bedeutend langsamer als bei höheren Temperaturen, entfärbt wurde. Auch bei diesen Versuchen wurde der Apparat mindestens stündlich auf seine richtige Temperatureinstellung hin kontrolliert. Die Versuche bei 10^{0} dauerten durchschnittlich 11 Stunden an. Mit steigender Temperatur wurde die Dauer der Reaktionszeiten kürzer, so daß bei den Versuchen bei 60^{0} nach ca. $\frac{3}{4}$ Stunde der Umschlag der Lösung erreicht war (s. Tab. XI auf S. 220—223).

Tab. XII. **Weizen — Blaue Dame.**

0,5 ccm Kalkwasser + 0,2 ccm Phen.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode Min.	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.
15. VIII.	2^{00}—2^{30}	8^{45}	405	375	7,00—7,92	13,1	15°
„	2^{8}—2^{35}	8^{50}	402	375	7,00—7,88	12,6	15°
10. VIII.	4^{20}—5^{15}	8^{40}	260	225	7,00—7,93	13,3	20°
„	4^{30}—5^{00}	8^{20}	230	200	7,00—7,92	13,1	20°
28. VIII.	8^{45}—9^{5}	12^{45}	240	220	7,00—8,02	14,6	25°
„	3^{15}—3^{35}	7^{13}	238	218	7,00—8,00	14,3	25°
23. VI.	8^{25}—8^{50}	11^{5}	160	135	7,00—7,95	13,6	30°
26. VI.	11^{28}—11^{45}	2^{20}	172	155	7,05—8,01	13,6	30°
14. VII.	2^{33}—2^{48}	4^{33}	120	105	7,00—7,91	13,0	35°
18. VII.	4^{45}—5^{00}	7^{00}	135	120	7,00—7,95	13,6	35°
13. VII.	2^{50}—3^{5}	4^{30}	100	85	7,00—7,91	13,0	40°
29. VII.	9^{31}—9^{51}	11^{20}	109	89	7,00—7,95	13,6	40°
6. VII.	3^{58}—4^{14}	5^{20}	82	66	7,00—7,92	13,1	45°
13. VII.	9^{54}—10^{10}	11^{14}	80	64	7,00—7,97	13,8	45°
11. VII.	1^{38}—1^{58}	2^{50}	72	52	7,00—7,90	12,9	50°
3. VII.	2^{56}—3^{16}	4^{01}	65	45	7,00—7,90	12,9	50°
12. VII.	10^{5}—10^{26}	11^{28}	73	52	7,00—7,92	13,1	50°

Vor den Versuchen der Tabelle XI war schon mit derselben Weizensorte, aber bei geringerem Titer der Umschlagslösung gearbeitet worden. Es waren nur 0,5 ccm Kalkwasser + 0,2 ccm Phenolphtaleïn zur Herstellung der Lösung verwandt worden, und so brauchten nur 0,15 mg Kohlensäure absorbiert zu werden. Dementsprechend braucht nicht so viel Kohlensäure zur Neutralisation produziert zu werden; die Reaktionszeit wird kürzer, die Wasseraufnahme braucht zur Intensitätssteigerung der Kohlensäureabgabe nicht so groß zu werden (vergl. Tabelle XII); — es wird aber doch fast wieder der Betrag von 14% Feuchtigkeit bezogen auf lufttrockene Samen im Verlauf des Gesamtversuches erreicht, und dies veranlaßte mich zu dem Schluß, daß hier in einem kleinen Intervall von aufeinanderfolgenden Feuchtigkeitsgraden eine beträchtliche Intensitätsänderung der Kohlensäureproduktion stattfinden müsse (vergl. Kurve I).

Da die zuletzt verwandte Lösung etwas blaß gefärbt war, so wurde schon der leichteren Übersicht halber bei allen übrigen Versuchen die bereits oben erwähnte intensiv rot gefärbte Lösung von 220 ccm abgekochtem, destilliertem Wasser + 0,75 ccm Kalkwasser ($^1/_{40}$ norm.) + 7 Tropfen (= 0,15 ccm) Phenolphtaleïn benutzt, zu deren Neutralisation 0,225 mg Kohlensäure absorbiert werden mußten.

Tab. XI. Weizen — Blaue Dame.

0,75 ccm Kalkwasser + 7 Tropfen Phen.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	im Mittel	Hauptperiode	im Mittel	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Faktor für Van't Hoff	Bemerkungen
			Std. Min.		Min.						
23/24. VIII.	2^{35}—3^{5} nchm.	8^{40} früh	18 5 = 1085		1055		7,00—8,08	15,4	5°		Beide Versuche dieselbe Lösung.
〃	2^{30}—3^{00} 〃	8^{5} 〃	17 35 = 1055		1025		7,00—8,06	15,1	5°		
25. VIII.	3^{25}—3^{55} früh	7^{25}abds.	16 = 960	1009	930	979	7,00—7,99	14,1	5°	—	Lösung noch etwas rötlich.
〃	3^{30}—4^{00} 〃	7^{40} 〃	16 10 = 970		940		7,00—8,01	14,4	5°		
25/26. VIII.	7^{50}—8^{20}abends	12^{3}mittg.	16 13 = 973		943		7,00—8,04	14,9	5°		
〃	8^{00}—8^{30} 〃	12^{50} 〃	16 50 = 1010		980		7,00—8,05	15,0	5°		
16. VIII.	1^{48}—2^{10}	12^{50}	662		640		6,99—8,02	14,6	10°		
17. VIII.	1^{45}—2^{20}	12^{45}	660		625		7,00—8,07	15,3	10°		
21. VIII.	12^{25}—12^{55}	12^{00}	695		665		7,00—8,10	15,7	10°		
〃	3^{00}—3^{30}	2^{15}	675	690,6	645	659,4	7,00—8,02	14,6	10°	—	
22. VIII.	1^{35}—2^{20}	1^{20}	705		660		7,00—8,08	15,4	10°		
〃	1^{45}—2^{25}	1^{25}	700		660		7,05—8,15	15,6	10°		
28. VIII.	10^{00}—10^{25}	10^{15}	735		710		7,00—8,08	15,4	10°		
〃	10^{7}—10^{30}	9^{40}	693		670		7,00—8,00	14,3	10°		
18. VIII.	10^{19}—10^{50}	6^{10}	471		440		7,00—8,01	14,4	15°		
27. VIII.	6^{33}—6^{48} früh	2^{30}	477		462		6,99—8,00	14,5	15°		
〃	6^{40}—7^{00}	2^{10}	450		430		7,00—8,00	14,3	15°		
29. VIII.	10^{16}—10^{41}	6^{23}	487	475,6	462	449,7	7,00—8,01	14,4	15°	$\frac{979}{449,7} = 2,177$	
30. VIII.	6^{45}—7^{15} früh	2^{35}	470		440		7,00—7,99	14,1	15°		
〃	6^{52}—7^{22}	3^{6}	494		464		7,00—8,00	14,3	15°		
31. VIII.	7^{50}—8^{20}	3^{50}	480		450		7,02—8,10	15,4	15°		

10. VIII.	8^{40}—9^{10}	2^{28}	348		318		7,00—8,08	15,4	20°	
"	8^{50}—9^{20}	2^{40}	350		320		7,05—8,18	16,0	20°	
26. VIII.	2^{45}—3^{3}	8^{18}	333	351,3	315		7,00—8,01	14,4	20°	
"	3^{5}—3^{20}	8^{55}	350		335	329	7,00—8,00	14,3	20°	$\frac{659,4}{329} = 2,004$
27. VIII.	2^{50}—3^{5}	8^{30}	340		325		7,00—8,02	14,6	20°	
30. VIII.	3^{23}—3^{48}	9^{50}	387		362		7,00—8,07	15,3	20°	
24. VIII.	8^{37}—8^{52}	1^{30}	293		278		7,00—8,09	15,6	25°	
25. VIII.	3^{00}—3^{20}	7^{35}	275		255		7,00—8,04	14,9	25°	
27. VIII.	8^{40}—9^{00}	1^{00}	260		240		7,03—8,11	15,4	25°	
1. IX.	9^{45}—10^{10}	2^{17}	272		247		7,02—8,07	15,0	25°	
"	9^{50}—10^{15}	2^{19}	269	271	244	251	7,00—7,99	14,1	25°	$\frac{449,7}{251} = 1,79$
"	3^{18}—3^{38}	7^{48}	270		250		7,02—8,08	15,1	25°	
"	3^{20}—3^{40}	7^{53}	273		253		7,00—8,04	14,9	25°	
7. IX.	10^{50}—11^{10}	3^{12}	262		242		7,02—8,01	14,1	25°	
2. IX.	7^{58}—8^{23}	11^{30}	212		187		7,00—8,05	15,0	30°	
"	8^{1}—8^{26}	11^{16}	195		170		7,02—8,02	14,3	30°	
"	11^{55}—12^{15}	3^{30}	215		195		7,01—8,05	14,8	30°	
"	12^{00}—12^{20}	3^{33}	213	212	193	191,6	7,00—8,00	14,3	30°	$\frac{329}{191,6} = 1,72$
7. IX.	3^{7}—3^{22}	6^{36}	209		194		7,00—8,01	14,4	30°	
8. IX.	10^{35}—10^{55}	2^{15}	220		200		7,00—8,05	15,0	30°	
"	2^{33}—2^{53}	6^{15}	222		202		7,00—8,05	15,0	30°	
17. VII.	9^{17}—9^{37}	11^{45}	148		128		7,00—8,00	14,3	35°	
3. IX.	11^{33}—11^{53}	2^{16}	163		143		7,01—8,04	14,3	35°	
"	11^{40}—12^{00}	2^{24}	164		144		7,05—8,16	15,7	35°	
6. IX.	9^{36}—9^{51}	12^{14}	158	159	143	140,1	7,00—7,98	14,0	35°	$\frac{251}{140} = 1,79$
"	1^{52}—2^{12}	4^{50}	178		158		7,00—8,04	14,9	35°	
9. IX.	9^{25}—9^{45}	11^{50}	145		125		7,00—8,00	14,3	35°	
[7. IX.	12^{15}—12^{30}	1^{50}	95		80		7,02—7,74	10,5	35°]	2 ganz neue und nicht ausgekochte Lappen.

Tab. XI. Weizen — Blaue Dame.

0,75 ccm Kalkwasser + 7 Tropfen Phen. (Fortsetzung.)

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	im Mittel	Hauptperiode	im Mittel	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Faktor für Van't Hoff	Bemerkungen
					Min.						
4. IX.	9^{48}—10^{8}	11^{47}	119		99		7,05—8,14	15,5	40°		
"	9^{55}—10^{10}	11^{49}	114		99		7,00—8,01	14,4	40°		
"	1^{25}—1^{40}	3^{10}	105	116	90	99,7	7,00—8,01	14,4	40°	$\frac{191,6}{99,7} = 1,90$	
"	1^{30}—1^{45}	3^{15}	105		90		7,00—8,02	14,7	40°		
"	3^{45}—4^{00}	6^{00}	135		120		7,00—8,08	15,4	40°		
9. IX.	3^{14}—3^{34}	5^{14}	120		100		7,02—8,00	13,9	40°		
5. IX.	9^{50}—10^{10}	11^{10}	80		60		7,05—8,13	15,3	45°		
"	10^{5}—10^{28}	11^{28}	83		60		7,02—8,17	16,3	45°		
"	1^{28}—1^{45}	2^{50}	82		65		7,00—8,00	14,3	45°		
"	1^{35}—1^{50}	2^{56}	81	85	66	66	7,00—7,93	13,3	45°	$\frac{140}{66} = 2,1$	
"	3^{14}—3^{37}	4^{45}	91		68		7,01—7,99	14,0	45°		
"	3^{19}—3^{38}	4^{50}	91		72		7,00—8,00	14,3	45°		
13. VII.	7^{45}—8^{03}	9^{13}	88		70		7,00—7,97	13,9	45°		
3. VII.	9^{00}—9^{20}	10^{15}	75		55		7,00—7,97	13,9	50°		
"	12^{15}—12^{35}	1^{30}	75		55		7,00—8,00	14,3	50°		
12. VII.	8^{30}—8^{50}	9^{37}	67		47		7,00—8,04	14,8	50°		
17. VII.	5^{29}—5^{44}	6^{37}	68	70	53	53	7,00—8,06	15,1	50°	$\frac{99,7}{53} = 1,88$	
"	8^{19}—8^{34}	9^{30}	71		56		7,00—8,00	14,3	50°		
6. IX.	3^{32}—3^{47}	4^{45}	73		58		7,00—8,05	15,0	50°		
7. IX.	5^{00}—5^{15}	6^{07}	67		52		7,00—7,95	13,6	50°		
9. IX.	5^{10}—5^{30}	6^{20}	70		50		7,00—8,03	14,7	50°		

5. IX.	5^{10}—5^{26}	6^{4}	54		38		7,00—7,98	14,0	55°		
6. IX.	9^{28}—9^{45}	10^{21}	53		36		7,02—8,01	14,1	55°		
„	10^{23}—10^{38}	11^{12}	49	52	34	36	7,00—8,00	14,3	55°	$\frac{66}{36} = 1,83$	
„	11^{16}—11^{33}	1^{17}	61		44		7,00—8,10	15,7	55°		
„	2^{37}—2^{52}	3^{20}	43		28		7,00—7,91	13,0	55°		
7. IX.	10^{42}—10^{57}	11^{32}	50		35		7,00—7,92	13,1	60°		
„	11^{48}—12^{03}	12^{40}	52		37		7,00—8,00	14,3	60°		
8. IX.	11^{34}—11^{49}	12^{24}	50	50	35	35	7,02—8,02	14,2	60°	$\frac{53}{35} = 1,51$	
„	2^{43}—2^{58}	3^{32}	49		34		7,00—8,10	15,7	60°		
„	3^{50}—4^{05}	4^{40}	50		35		6,00—6,92	15,3	60°		Versehentlich 6 g genommen.
9. IX.	10^{21}—10^{36}	11^{9}	48		33		7,00—8,02	14,5	65°		
„	11^{40}—11^{55}	12^{28}	48		33		7,00—8,07	15,3	65°		
„	3^{21}—3^{36}	4^{6}	45	46	30	31,7	7,05—8,14	15,4	65°	$\frac{36}{31,7} = 1,136$	
„	$4^{27\frac{1}{2}}$—$4^{42\frac{1}{2}}$	$5^{12\frac{1}{2}}$	45		30		7,00—8,07	15,3	65°		
„	5^{24}—5^{39}	6^{15}	51		36		7,00—8,10	15,7	65°		
„	6^{28}—6^{43}	7^{11}	43		28		7,00—7,91	13,0	65°		

Mit steigender Temperatur ist also, wenn auch nicht proportional, so doch stets eine Steigerung der Atmungsintensität zu verzeichnen. Fragen wir uns dabei, wie weit die Regel von Van't Hoff[1]) für die Steigerung der Atmungsintensität bei 10° Temperaturerhöhung zutrifft, so sehen wir, daß der Faktor bald abnimmt und die Regel gerade noch für 20° C. zutrifft. Die Hauptperiode bei 5° dauert 979 Minuten, bei 15° 449,7 Min. Daraus findet man die Verhältniszahl $\frac{979}{449,7} = 2,177$.

Für 15° beträgt also der Faktor für Van't Hoff $\frac{A_5}{A_{15}} = 2,177$,

" 20° " " " " " " " $\frac{A_{10}}{A_{20}} = 2,004$,

" 25° " " " " " " " $\frac{A_{15}}{A_{25}} = 1,79$.

Die übrigen Faktoren kann man aus der Tabelle XI ersehen. Die daraus konstruierte Atmungskurve II wurde so gewonnen, daß die Intensität der Kohlensäureproduktion bei 5° gleich 1 gesetzt wurde; diese Grundeinheit wurde mit den Faktoren der Van't Hoffschen Regel multipliziert: also bei 15° ist die Intensität 2,177 mal so groß wie bei 5°, also = 2,177; bei 25° = 2,177 · 1,79 = 3,89 usw. Durch das einfachere Titrieren würde man wegen der zu geringen Kohlensäuremengen kaum so genaue Werte erzielen können. Zum Vergleiche habe ich auch eine Kurve nach der Regel von Van't Hoff mit dem konstanten Faktor 2 und eine hypothetisch abgerundete Kurve mit angegeben (vergl. Atmungskurven II).

Man sieht aus diesen berechneten Werten nach Van't Hoff und aus der Atmungskurve II, daß die Steigerung der Kohlensäureproduktion nicht proportional mit der Temperatur verläuft, sondern sich in einer nach der Abszisse der Temperatur im unteren Teil konvexen Kurve[2]) darstellt, deren Ordinaten die zu den betreffenden Temperaturen gehörenden Atmungsintensitäten anzeigen. Für junge Keimpflanzen von Triticum fand Kuyper[3]), daß auch hier nur von 0°—20° die Regel von Van't Hoff zutrifft.

Weiter aber sehen wir, und das ist von besonderem Interesse, daß in der Nähe derjenigen Temperaturen, welche auf das Plasma tödlich wirken, der Faktor nach Van't Hoff noch einmal zunimmt

---

[1]) Van't Hoff schreibt in seiner „Theoretischen und physikalischen Chemie": Bei weitem die meisten Reaktionen zeigen durch Ansteigen der Temperatur um 10° eine Verdoppelung bis Verdreifachung der Geschwindigkeit. Auch die Menge ausgeatmeter Kohlensäure, die Respiration von Weizen, Lupinen etc. zeigt zwischen 0° und 25° solche Beschleunigung.

[2]) Vergl. H. Clausen, Beiträge zur Kenntnis der Atmung der Gewächse und des pflanzlichen Stoffwechsels. Landw. Jahrb. 19, 1890, S. 893.

[3]) J. Kuyper, l. c.

(s. Tab. XI); die Intensität der Kohlensäureproduktion steigt also in stärkerem Maße an, und zwar gerade bei den Temperaturen, wo nach früheren Autoren[1]) das Optimum der Atmung liegen sollte (40° bis 45°). Nach neueren Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß es kein eigentliches Optimum der Atmung gibt. Unter gewissen Bedingungen[2]) kann man zwar recht wohl von einem Optimum der Atmungsintensität sprechen, aber nicht allgemein von dem Optimum. Dieses ist verstellbar durch Veränderung der Beobachtungszeit. Man nimmt jetzt wohl allgemein an, daß dabei zwei übereinandergreifende Prozesse beteiligt sind, wobei jeder sein Minimum, Optimum und Maximum besitzt. Je nach der bestimmten Untersuchungstemperatur des Gesamtprozesses wird jeder in seiner Wirkung mehr oder minder beeinflußt werden; die positive und negative Gesamtwirkung stellt uns die für die betreffende Temperatur festgestellte Atmungsintensität dar. Blackmann[2]) z. B. führt die Ursache des Rückganges in der Intensität zurück auf ein Antienzym oder die Vernichtung eines Enzyms.

Bei derartigen Versuchen kommt es natürlich auf die Dauer der Vorperiode an. Denn je länger diese ausgedehnt ist, um so mehr werden auch zumal hohe Temperaturgrade schädigend auf die Enzyme einwirken, und man bekommt so in der Hauptperiode einen falschen, zu geringen Wert für die Atmungsintensität. Der Wert wird um so mehr sich dem eigentlichen nähern, je kürzer die Vorperiode gewählt ist. Blackmann hat denselben Gedankengang und meint, daß ein abenteuerlicher Beobachter, dessen Methode nur mit ¼ Stunde Vorperiode arbeiten würde, ein experimentelles Optimum über 40° C. erreichen würde und vielleicht so nahe dem Auslöschungspunkt, daß er entscheiden würde, es gäbe kein wirkliches Optimum. Bei solchen Untersuchungen, wie den vorliegenden, ist man gezwungen, eine fast derartig kurze Vorperiode zu wählen, da sonst eine merkliche Kohlensäureabgabe besonders bei hohen Temperaturen schon in die Vorperiode gefallen und so für die allgemeine Reaktionszeit verloren gegangen wäre. Man hätte vielleicht kein klares Bild von der mit fortschreitender Quellung auch bei hohen Temperaturen verbundenen Intensitätssteigerung der Kohlensäureproduktion bekommen.

---

[1]) z. B. W. Detmer, Beobachtungen über die norm. . . . l. c. Er findet ein Optimum der Atmung bei 40° für Triticum und Lupinus. Auch Chudiakow (Landw. Jahrb. 23. 1894, S. 333) — Beiträge zur Kenntnis der intramolekularen Atmung — konnte an stark gequollenen Samen (1—2 Tage) bei 40° die intensivste Kohlensäureproduktion beobachten, erkennt aber mit Recht, daß es sich hier nicht um ein Optimum handelt, sondern daß das Material durch die weitere Temperatursteigerung nur geschädigt wird.

[2]) F. F. Blackmann, Optima and limiting factors. Annales of Botany Vol. XIX.

Daß der Van't Hoffsche Faktor sich hier im Gegensatz zu den Versuchen anderer Autoren, welche mit jungen Keimpflanzen operierten, bis zur Abtötungstemperatur auf solcher Höhe (vergl. Tab. XI) erhält, liegt wohl an der schon angedeuteten großen Widerstandsfähigkeit der Samen gegen die schädigenden Temperatureinflüsse (s. u.). Der Faktor wird erst da beträchtlich kleiner und die Atmungskurve II konkav, wo die Samen abgetötet werden. Es scheinen sich also in den hier behandelten frühen Quellungsstadien neben den rein chemischen auch physiologische Prozesse abzuspielen. Man sieht aus Tabelle XI eine dauernde Steigerung der Kohlensäureproduktion mit der Temperatur, und zwar bis zu Werten, wo von einem Leben des Pflanzenorganismus nicht mehr die Rede ist, wie die Aussaat zeigte. Dies ist vielleicht der Grund dafür, daß wir kein eigentliches Optimum der Atmung feststellen können, weil eben dieser Prozeß im großen und ganzen von einer Summation enzymatischer Tätigkeiten dargestellt wird und nur bis zu einem gewissen Grade von dem Leben und seinem regulatorischen Eingreifen abhängig ist.

Man könnte vielleicht der Ansicht sein, daß die Steigerung der Kohlensäureabgabe mit höheren Temperaturen deshalb nicht so intensiv fortschreitet, weil die Enzyme schnell durch die Einwirkung der Wärme vernichtet würden. Um einen Einblick in diese Verhältnisse zu bekommen, wurden 7 g Weizen bei 52° C. in den Apparat gebracht, also bei einer Temperatur, bei welcher junge Keimpflanzen bald geschädigt werden.

Material: Strubes Schlesischer. Dauer des Versuchs: 10^{58}—11^{18}—11^{50}. Vorperiode = 20 Min., Hauptperiode = 32 Min.

Gewichtszunahme 7,00—7,98 g = 14,0%.

Darauf kamen die Samen bei diesem konstanten Feuchtigkeitsgehalt, wo sie also intensive Kohlensäureabgabe zeigen, wieder in den Apparat (getrennt von den Lappen); denn es sollte ja untersucht werden, in welcher Zeit die Enzyme bei konstantem Wassergehalt geschädigt werden. Während der Zwischenpausen, auch die ganze Nacht hindurch, wurde die exhalierte Kohlensäure durch die Nebenleitung des Apparates fortgeschafft.

7. XII. 1^{4}—1^{18} = 14 Min. Reaktionszeit
3^{10}—3^{32} = 22 〃 〃
4^{22}—4^{44} = 22 〃 〃

8. XII. morgens 10^{15}—10^{43} = 28 Min. Reaktionszeit
nachm. 4^{20}—6^{13} = 113 〃 〃

Am Schluß des Versuches wogen die Samen 8,00 g = 14,3%.

Also erst nach beträchtlicher Einwirkung der hohen Temperatur wurde die Tätigkeit der Enzyme geschädigt. Man muß dabei be-

denken, daß das Optimum für Diastase erst bei 63° (Kjeldahl)[1]) liegt. Aber die Samen sind auch sonst in diesen frühen Quellstadien, wie auch aus anderen hier angegebenen Versuchen hervorgeht, ganz im Gegensatz zu den Keimpflanzen recht widerstandsfähig. Ich hätte ganz gut die Vorperiode länger ausdehnen können, wenn es mir nur darauf angekommen wäre, die Intensitätssteigerung der Kohlensäureabgabe mit der Temperatur in frühen Quellungsstadien zu untersuchen. Dabei hätte ich aber nicht beobachten können, wie viel Kohlensäure bei fortschreitender Quellung produziert wird bis zu der Erreichung eines bestimmten Quellstadiums. Diese Menge ist nach den von mir gefundenen Resultaten (besonders Tab. XI) immer gleich; (wenigstens liegen die Schwankungen innerhalb der Fehlergrenze).

Da bei hohen Temperaturen die Samen voraussichtlich immer mehr Zeit brauchen als bei niederen, um die Untersuchungstemperatur anzunehmen, wurden bei einigen Versuchen die zu untersuchenden lufttrocknen Samen vorgewärmt. Sie wurden zu diesem Zwecke abgewogen (7 g) in einem verschlossenen Reagenzglas in den betreffenden Wasserthermostaten gebracht und so bei der späteren Untersuchungstemperatur ¼ Stunde lang vorgewärmt. Dabei verloren sie im Höchstfalle 0,01 g an Gewicht.

Tab. XIII. **Weizen — Blaue Dame.**

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Bemerkungen
				Min.				
4. VII.	3^{21}—3^{41}	4^{3}	42	22	7,00—8,20	17,14	65°	
5. VII.	8^{25}—8^{45}	9^{15}	50	30	7,00—8,20	17,14	65°	
6. VII.	9^{18}—9^{43}	10^{3}	45	20	7,00—8,12	16,0	65°	
„	10^{40}—11^{15}	11^{30}	50	15	7,00—8,12	16,0	65°	*)

*) Der letzte Versuch war nicht vorgewärmt und dient zum Vergleich.

Nach dem Vorerwärmen wurden die Samen schnell in die ausgekochten feuchten Lappen gewickelt und kamen in den Apparat. Nach diesen wenigen Daten scheint kurzes Vorerwärmen[2]) keinen Einfluß in diesen frühen Entwicklungsstadien auszuüben. Wegen der längeren Vorperiode erscheint im Vergleich zu Tab. XI die Hauptperiode nur etwas kürzer. Man sieht daraus, daß die Hauptproduktion an Kohlensäure erst nach Beendigung der Vorperiode (20 Minuten) einsetzt.

[1]) Resumé du compt. rend. des travaux du Lab. Carlsberg 1879.

[2]) Vergl. Vorerwärmen und Atmungssteigerung bei Müller-Thurgau, Schneider-Orelli, Beiträge zur Kenntnis der Lebensvorgänge in ruhenden Pflanzenteilen. Flora 101. Bd. 3. Heft, S. 309.

Eine größere (doppelte) Menge von Samen ruft wohl den Umschlag der Reaktionsflüssigkeit etwas eher hervor, da eben doppelt so viel Material atmet; aber doch wird auch hier der charakteristische Schwellenwert von annähernd 14% Wassergehalt bis zum Umschlag der Indikatorlösung erreicht.

30. XI. 14,01 g Blaue Dame. Temp. 35° C.

Dauer von $\underbrace{10^{8}-10^{28}}_{\text{Vorp.}}-12^{23}$ = 135 Min.

Gewichtszunahme: 14,01—15,92 g = 13,64%.

b. Vergleichsversuche mit anderem Weizen.

Außer dieser Weizensorte (Blaue Dame) wurden noch zwei andere hinsichtlich des mit dem Einsetzen einer deutlichen Atmung verbundenen Feuchtigkeitsgehaltes untersucht: „Strubes Schlesischer" Ernte 1910 und „Turkestanischer Sommerweizen" 1910. Die verschiedenen Weizensorten gestatten an der Hand der beigegebenen Analysen einen gewissen Einblick in die Beziehung zwischen Atmungsintensität und dem gebotenen Atmungsmaterial.

Analysen.

Sorte	Trockensubstanz	Asche	Rohproteïn	Stickstoff	Korn-*) gewicht
Blaue Dame 1910 St.III.03C07	83,27	1,88	12,88	2,06	5,10
Strubes Schlesischer 1910	85,12	1,94	14,50	—	5,08
Turkestan. Sommerw. 1910	84,64	2,24	16,38	2,62	3,54

*) Korngewicht heißt das Durchschnittsgewicht in g von 100 Körnern.

Tab. XIV. **Strubes Schlesischer 1910.**

Dat.	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer	Hauptperiode	Gewichtszunahme	in %	Temp.
3. XII.	10^{56}—11^{16}	2^{57}	241	221	7,00—8,03	14,7	25°
„	11^{7}—11^{27}	2^{2}	175	155	7,00—8,01	14,4	30°
„	3^{18}—3^{38}	5^{17}	119	99	7,00—8,01	14,4	35°
„	2^{38}—2^{58}	4^{23}	105	85	7,00—8,04	14,8	40°
„	4^{47}—5^{7}	5^{51}	64	44	7,00—7,94	13,4	45°
„	6^{15}—6^{35}	7^{16}	61	41	7,00—8,02	14,6	50°

Tab. XV. **Turkest. Sommerweizen 1910.**

Dat.	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer	Hauptperiode	Gewichtszunahme	in %	Temp.
13. XI.	9^{54}—10^{14}	3^{00}	306	286	7,00—8,18 g	16,8	20°
10. XI.	9^{12}—9^{32}	11^{51}	159	139	7,00—8,13 g	16,1	25°
15. XI.	8^{39}—8^{59}	10^{41}	122	102	7,02—8,12 g	15,7	30°
16. XI.	8^{57}—9^{17}	10^{38}	101	81	7,00—8,08 g	15,4	35°
14. XI.	11^{41}—12^{3}	1^{5}	84	64	7,00—8,00 g	14,3	40°
10. XI.	2^{15}—2^{35}	3^{17}	62	42	7,00—8,10 g	15,7	45°

Vergleicht man die Analysen und die Reaktionszeiten miteinander, so sieht man deutlich, daß mit steigendem Proteïn- und Stickstoffgehalt die Umschlagszeiten kürzer werden; es wird in der Zeiteinheit mehr Kohlensäure produziert, die stickstoffreichen Samen atmen intensiver.

Schon rein äußerlich sieht man einen deutlichen Unterschied zwischen den verschiedenen Weizensorten: die Körner der „Blauen Dame" sind sehr groß und mehlig, während diejenigen vom „Turkestan. Weizen" ein glasiges Aussehen besitzen und klein sind. „Strubes Schles." nimmt eine Zwischenstellung ein, steht aber näher der „Blauen Dame". Auf diese scheinbaren Beziehungen gründet sich eine gewisse Abneigung der Brauer gegen die Verwertung glasiger Gerste zur Malzbereitung, da sie annehmen, daß die mehlige stärkereich ist, die glasige dagegen sehr eiweißreich, weshalb sie ihr auch geringere Keimungsenergie zuschreiben. Man muß jedoch bei einem derartigen Schluß sehr vorsichtig sein[1]).

Aus Tabelle XI für „Blaue Dame" ersieht man, daß die Feuchtigkeitsgrade, welche die Samen beim Umschlag der Lösung angenommen haben, bei den verschiedensten Untersuchungstemperaturen nicht mehr variieren als bei derselben Temperatur. Dies brachte mich zuerst mit zu der Ansicht, daß es sich bei den angeführten Werten um Schwellenwerte handelt, da die Samen vorher, d. h. bei niederem Wassergehalt, auch bei hohen Temperaturen nur geringe Atmung zeigen und diese Verhältnisse sich ändern, sobald der Schwellenwert erreicht ist. Und zwar ist die Steigerung so intensiv, daß ich an diesen Punkt die ersten Regungen der neu erwachenden plasmatischen Lebenstätigkeit verlegen möchte.

c. Untersuchungen auf Zucker und Diastase.

Um näher zu erkennen, daß es sich in den von mir untersuchten frühen Quellungsstadien um ein merkliches Einsetzen, zum mindesten eine Steigerung der Lebenstätigkeit handelt, suchte ich festzustellen, ob neue, wenn auch sehr kleine Mengen von Diastase in den für die Versuche benutzten Samen sich nachweisen ließen, ferner ob durch die kurze Lebenstätigkeit Zucker neu gebildet oder etwa vorhandener durch die kurze, gesteigerte Atmung verarbeitet sei. Gewöhnlich wurden die Samen in einer Mühle zermahlen, und der daraus hergestellte, öfter filtrierte Auszug wurde auf Fehling reduzierenden Zucker geprüft. Zur näheren Untersuchung gelangte nur eine Weizensorte, die „Blaue Dame". Durch sorgfältiges Titrieren mit Fehlingscher

---

[1]) Just und Heine, Mehlige und glasige Gerste. Landw. Versuchsstat. 36, 1889, S. 269.

Lösung konnte ich mit Sicherheit weder in den ungequollenen noch in den gequollenen Weizenkörnern eine reduzierende Zuckerart feststellen. Zwar schien sich in vereinzelten Fällen in dem Extrakt beider Art von Körnern Kupferoxydul auszuscheiden, doch war es eben nicht ganz sicher nachweisbar, zumal die Flüssigkeit ziemlich trüb war und auch Fällen mit Bleiacetat wenig nützte. Überdies ist die Fehlingsche Reaktion nicht eindeutig. V. Grafe[1]) konnte bei seinen „Studien über den microchemischen Nachweis verschiedener Zuckerarten mittels der Phenylhydrazinmethode" im ruhenden Gerstenkorn gleichfalls keinen Zucker nachweisen und erst nach 24stündigem Quellen charakteristische Maltosereaktion bemerken; auch nach E. Schulzes und Ch. Godets[2]) „Untersuchungen über die in den Pflanzensamen enthaltenen Kohlehydrate" fehlen die reduzierenden Kohlehydrate in ungekeimten Samen der Cerealien. Auch mit dem Polarisations-Saccharimeter konnte kein Zucker nachgewiesen werden; doch möchte ich diesen Untersuchungen wegen mangelnder Genauigkeit weniger Wert zulegen.

Der Umstand, daß kein Zucker festgestellt werden konnte, spricht noch nicht gegen die Annahme der in dieser Zeit erwachenden Lebenstätigkeit. Es könnte ja von der sich vermehrenden Diastase ein etwas größeres Quantum von Zucker bereitgestellt werden, das seinerseits nun die Atmung unterstützt und so eine Steigerung der Intensität hervorruft, dabei aber selbst wieder mit veratmet wird, so daß man die tatsächliche Zuckerzunahme quantitativ nicht nachweisen und nur aus der gesteigerten Atmung vermuten kann.

Deshalb erschien mir auch die quantitative Untersuchung der Diastase in gequollenen und ungequollenen Samen von Wichtigkeit. Zunächst wurde die Anwesenheit von Diastase nachgewiesen:

25 g Weizen (Blaue Dame) wurden lufttrocken mit chemisch reinem Seesand fein verrieben und mit 500 ccm 1prozentigem Toluolwasser sechs Stunden bei Zimmertemperatur extrahiert. Der Auszug wurde mehrfach filtriert und mußte 18 Stunden auf 1prozentige lösliche Stärke (Amylum solubile Merck) einwirken, die auf ihre Reinheit hin vorher untersucht war; — denn Amylum wird durch die Vorbehandlung zuweilen in Dextrin übergeführt, wie die Jodreaktion bei einer anderen Probe derselben Herkunft zeigte. — Am Schluß erhielt man die Fehlingsche Reaktion. Von der ausgeschiedenen Kupfermenge darf man aber nicht ohne weiteres auf die Zuckermenge

[1]) V. Grafe, Sitzungsber. der Wiener Akad. der Wissensch. Math.-Naturw. Klasse 114, Abt. 1, 1905.

[2]) Schulze und Godet, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 61, 1909, S. 279.

schließen[1]), da ein Gewichtsteil Zucker ganz verschiedene Mengen Kupferoxydul reduziert, je nachdem derselbe auf eine mehr oder minder kupferreiche Flüssigkeit einwirkt. Jedenfalls handelt es sich aber nur um geringe Diastasemengen, wie auch andere Autoren[2]) nur Spuren des diastatischen Enzyms im ruhenden Weizen etc. feststellen konnten. Man muß sich wohl vorstellen, daß aller Zucker veratmet ist und von der spärlichen Diastase gerade so viel Material für die Veratmung bereitgestellt wird, wie erforderlich ist, ein völliges Erlöschen der Lebensenergie zu verhindern. Es muß mit Reservematerial gespart werden, damit eine ev. große Ruheperiode überstanden werden kann und dann noch so viel davon vorhanden ist, den noch nicht autotrophen jungen Keimling mit der erforderlichen Nahrung zu versehen.

Um etwaige Änderungen im Diastasegehalt festzustellen, ging ich von der Betrachtungsweise aus, daß man aus ihrer Wirksamkeit auf ihre Gegenwart wie auf die größere oder geringere Menge schließen könne. Es wurde die bei Oppenheimer[3]) empfohlene Methode von Wohlgemut[4]) angewandt, wobei eine Reihe von Reagensgläsern, welche in Eiswasser stehen, und von denen jedes 5 ccm 1prozentige Stärkelösung enthält, mit absteigenden Mengen von der zu untersuchenden Fermentlösung beschickt wird. Diese wirkt eine bestimmte Zeit bei höherer Temperatur (35°) ein. Aus der Dauer der Einwirkung, der Temperatur und der späteren Färbung mit einem Tropfen $^{N}/_{10}$ Jodlösung kann man dann je nach der Maßeinheit (z. B. 1 ccm Speichel auf 250 ccm Stärke) die diastatische Wirksamkeit bestimmen und daraus auf die Mengenverhältnisse relativ schließen. Mittels dieser Methode gelang es mir in keinem Falle, einen Unterschied im Diastasegehalt zwischen unbenutzten Samen und solchen, die schon geatmet hatten, festzustellen. Nur in einem Falle konnte ich einen solchen Unterschied konstatieren, als ich eine ähnliche Methode verwandte wie H. Wohllebe[5]) bei seinen „Untersuchungen über die Ausscheidung des diastatischen Enzyms bei Samen". Dieser hatte nur eine Zunahme des Gehaltes an Protease in gequollenen Samen

---

[1]) Soxlet, Chemisches Zentralblatt 1878. Allihn, Zeitschrift für analyt. Chemie 18, 348.

[2]) E. Eisenberg, Beiträge zur Kenntnis der Entstehungsbedingungen diastatischer Enzyme in höheren Pflanzen. Flora 1907, Bd. 97, S. 347—374. W. Detmer, Botan. Zeitung, Bd. 37, 1883, S. 601. Vergl. Verhältnis von Kupfer- zur Diastasemenge. Czapek I. 342. Linz (Pringsheim 29, 1896, S. 267) gibt eine Tabelle über Beziehung von Kupfermenge und Diastase.

[3]) Oppenheimer, Fermente und ihre Wirkungen. 1910.

[4]) Wohlgemut, Methode zur quant. Best. der diastat. Ferm. Biochem. Ztg. IX, 1, 1908.

[5]) Wohllebe, Diss. Leipzig 1911, l. c.

von Triticum sativum gegenüber ungequollenen feststellen können, für Diastase aber nicht das gleiche bemerkt.

Es wurde 10prozentige warme Gelatinelösung mit 1prozentiger löslicher Stärke versetzt. Davon wurden in Petrischalen Platten gegossen und diese im Dampfsterilisator längere Zeit erhitzt, um die Wirkung spezifischer Mikrobien auszuschließen, welche die verkleisterte Stärke in dextrinartige Substanzen überzuführen vermögen, welch letztere zwar Fehlingsche Lösung nicht reduzieren, wohl aber die Jodreaktion beeinflussen[1]). Nach dem Erkalten und Erstarren wurden auf die Platten in aufsteigender Reihenfolge 0,1—0,6 ccm der zu untersuchenden Fermentlösung gebracht. Diese wurde wie oben hergestellt. Die Diastase wirkte dann $5\frac{1}{2}$ Tage bei durchschnittlich 12° auf die Stärke ein. Danach wurden die Platten mittels Jodjodkaliumlösung untersucht, wie weit und besonders in welchem Grade die Diastase die Stärke in Zucker übergeführt hatte. Dabei ließ sich nach dem Abspülen der Jodjodkaliumlösung feststellen, daß in der Fermentlösung, welche aus den gequollenen Samen hergestellt war, mehr Diastase sein mußte, als in derjenigen der unbenutzten Samen. Wenigstens besaßen die mit der letzteren versehenen Platten nicht so scharf konturierte Höfe. Demnach hat eine wenn auch äußerst minimale Zunahme der Diastase während der kurzen Quellung stattgefunden. Dies kann man wohl als eine Äußerung von geringer Lebenstätigkeit auffassen, und ich möchte wenigstens bei der hier untersuchten Weizensorte die ersten Regungen der neuen Tätigkeit des Plasmas mit dem Auftreten der intensiveren Atmung verbinden.

IV. Die Abhängigkeit der beginnenden Intensitätssteigerung.

(Untersucht zumeist an Dicotylen.)

Um einen etwas tieferen Einblick in die Fragen zu bekommen, welche Rolle die das Wasser aufnehmende Oberfläche und die Reservestoffe auf die Atmung der quellenden Samen ausüben, wurden noch andere, und zwar meist dicotyle Samen untersucht. Hierbei möchte ich gleich hervorheben, daß weniger Wert darauf gelegt wurde, ob es sich beim Umschlag der Lösung um einen Schwellenwert der Atmungsintensität der gequollenen Samen handelte oder nur um einen Feuchtigkeitsgrad, der eben erreicht war, als das Produkt aus Atmungsintensität $\times$ Zeit zum Umschlag genügte. Es wurden also die darunter liegenden Feuchtigkeitsgrade nicht auf ihre Intensität hin untersucht. Bei einigen Samen (Helianthus, Lupinus, Ervum Lens)

[1]) Schardinger, Bildung kristallisierter Polysaccharide aus Stärkekleister durch Microbien. Zentralblatt für Bakteriologie, 29. Bd. Febr. 1911.

scheint es sich um einen ähnlichen, wenn auch nicht so intensiven Steigerungsgrad der Atmungskurve zu handeln (vielleicht spielt hierbei die mehr isolierte Lage des Embryo beim Weizen eine Rolle), bei anderen (Ricinus, Brassica, Trigonella) scheint es sich um gewöhnliche Durchgangswerte der Atmungssteigerung zu handeln, da sich eine, wenn auch geringe, Tendenz dazu bemerkbar macht, daß bei höheren Temperaturen schon etwas geringere Feuchtigkeitsgrade genügen als bei niederen, um dieselbe Produktion an Kohlensäure zu ergeben. Man darf die von mir angeführten Werte der Wasseraufnahme also nicht so verstehen, daß bei allen Temperaturgraden bei gleichem Wassergehalt die Atmungsintensität gleich groß sei, weil sie genügt, den Umschlag in der Pettenkoferröhre herbeizuführen, und daß sie nur deshalb bei höheren Temperaturen stärker erscheine, weil die Quellung intensiver verlaufe, die entsprechenden Feuchtigkeitsgrade also eher erreicht werden. Es atmet z. B. Raps bei einem Wassergehalt von 26,4% bei 20° C. innerhalb 29 Minuten dasselbe Quantum an Kohlensäure aus wie bei nur 22,3% Wassergehalt und 50° C. innerhalb 6½ Minuten. Ferner dauerte der Umschlag der Lösung mit Weizen (Strubes Schles.) bis zu einer Wasseraufnahme von 12,3% bei 30° C. 139 Minuten; bei konstantem Wassergehalt (12,3%) und derselben Temperatur genügten (2 Stunden später) nur 60 Minuten. (Bei Brassica konnte bei 31° und entsprechendem konstanten Wassergehalt in den aufeinanderfolgenden Stunden zunächst noch eine ganz geringe Steigerung der Atmungsintensität beobachtet werden.)

a. Von der Größe der wasseraufnehmenden Oberfläche.

Aus dem Korngewicht geht hervor, daß vom Turkestanischen Sommerweizen (3,54) weit mehr Körner auf die stets benutzten 7 g kommen als von der Blauen Dame (5,10). Die aufnehmende Gesamtoberfläche ist also bei jenem größer; es wird daher auch mehr Wasser in der Zeiteinheit aufgenommen und die Atmungsintensität kann somit schneller gesteigert werden. Da nun beim Weizen die Wasseraufnahme am Embryo stattfindet und sich das Wasser zunächst in der Aleuronschicht nach der Spitze des Samens zu ausbreitet[1]), so werden gerade diejenigen Schichten getroffen, welche G. Haberlandt[2]) als ein zur Zeit der Keimung Diastase bildendes und ausscheidendes Drüsengewebe ansieht (wie auch schon eine starke Sekretion von Protease

---

[1]) H. Schröder, Über die selektiv permeabele Hülle des Weizenkorns. Flora, 2. Heft 1911, S. 186.

[2]) G. Haberlandt, Die Kleberschicht des Grasendosperms als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. VIII, 40.

[s. o.] in gequollenen Samen von Triticum sativum konstatiert werden konnte). Die kleineren Samen vom Turkestan. Weizen müssen aber auch, da sie im ganzen eine größere Oberfläche vorstellen, mehr Wasser absorbieren: die durchschnittliche Wasseraufnahme bei den Körnern der Blauen Dame beträgt bis zur Erreichung des Umschlags 14,68%, beim Turkestan. Weizen dagegen 15,66%. (Vergl. hierzu die Versuche mit Ricinus S. 235.)

Den Einfluß der Größe der Oberfläche auf die Wasseraufnahme und das damit verbundene Einsetzen einer merklichen Kohlensäureausscheidung kann man z. B. an der Linse und der Zwerglupine studieren, wenn auch nur bis zu einem gewissen Grade, da die Artcharaktere und die Natur der Reservestoffe für die Steigerung der Atmungsintensität wohl die größere Rolle spielen. Beide Samenarten besitzen dieselbe flache Gestalt, aber Lupinus nanus ist viel kleiner und leichter und seine Samen stellen nur winzige Blättchen, somit eigentlich nur Oberfläche dar. Es kommen daher bei demselben Gewicht (7 g) bedeutend mehr Individuen davon als von der Linse in den Apparat. Die Oberfläche, die Zahl der Micropylen und somi

Tab. XVI. **Ervum Lens.**
Korngewicht = 7,48.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.
3. XI.	8^{30}—8^{55}	1^{20}	290	265	7,00—8,51	21,6	15^0
„	8^{35}—9^{00}	1^{00}	265	240	7,02—8,58	22,2	15^0
4. XI.	9^{00}—9^{20}	12^{30}	210	190	7,00—8,60	22,9	20^0
„	9^{13}—9^{33}	12^{54}	221	201	7,00—8,61	23,0	20^0
6. XI.	4^{32}—4^{52}	7^{20}	168	148	7,00—8,52	21,7	25^0
„	4^{40}—5^{00}	7^{35}	170	150	7,02—8,67	23,5	25^0
7. XI.	8^{55}—9^{15}	11^{7}	132	112	7,00—8,63	23,3	30^0
„	11^{13}—11^{33}	12^{51}	98	78	7,03—8,56	21,8	35^0
„	11^{45}—12^{5}	1^{20}	95	75	7,04—8,62	22,4	35^0
„	1^{23}—1^{43}	2^{36}	73	53	7,00—8,52	21,7	40^0
9. XI.	12^{26}—12^{46}	1^{45}	79	59	7,03—8,67	23,7	40^0
„	9^{38}—9^{58}	10^{35}	57	37	7,01—8,62	22,9	45^0
„	10^{53}—11^{13}	11^{55}	62	42	7,02—8,68	23,6	45^0
8. XI.	10^{00}—10^{20}	10^{48}	48	28	7,03—8,71	23,9	50^0
9. XI.	12^{17}—12^{37}	12^{57}	40	20	7,05—8,63	23,1	50^0
[7. XI.	9^{27}—9^{47}	11^{22}	115	95	7,00—8,50	21,4	30^0]
10. XI.	1^{14}—1^{34}	1^{53}	39	19	7,00—8,49	21,3	55^0
„	2^{2}—2^{22}	2^{38}	36	16	7,04—8,63	23,2	55^0
„	9^{2}—9^{22}	9^{34}	32	12	7,00—8,47	21,0	60^0
„	9^{46}—10^{6}	10^{22}	36	16	7,01—8,53	21,7	60^0

die Aussicht auf eine schnelle Wasseraufnahme ist bei Lupinus nanus viel größer. Trotzdem sehen wir, daß von der Lupine (Tab. XVII)

in der Zeiteinheit kaum halb so viel Wasser aufgenommen wird wie von der Linse (Tab. XVI). Der anatomische Bau der Samenschale, besonders die schwere Durchlässigkeit der Pallisadenschicht[1]) mag hieran mit die Schuld tragen. Andrerseits brauchen die Lupinen auch nicht ein solches Quantum an Wasser aufzunehmen, um intensiver zu atmen; sie erreichen bei einem Feuchtigkeitsgrade von 11% schon dieselbe Atmungsstufe wie die Linsen bei 22%. Jene würden also bei schnellerer Wasseraufnahme z. B. bei Temperaturschwankungen im Freien und der damit verbundenen Kondensation von Wasser nur noch eher dem Verderben anheimfallen, als es ohnehin schon der Fall ist.

Die Tatsache, daß die Lupinen schon bei niederem Feuchtigkeitsgehalt so intensiv atmen, ist offenbar auf denselben Grund zurückzuführen, der sich schon bei der stärkeren Kohlensäureproduktion des Turkestan. Weizens gegenüber den stärkereichen Weizensorten geltend gemacht hatte: auf den hohen Stickstoffgehalt.

Tab. XVII. **Lupinus nanus.**
Korngewicht = 0,62.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.
21. XI.	$1^{43}-2^{3}$	6^{44}	301	281	7,00—7,75	10,7	15°
"	$1^{53}-2^{13}$	6^{42}	289	269	7,00—7,81	11,6	15°
22. XI.	$4^{45}-5^{5}$	7^{23}	158	138	7,00—7,79	11,3	25°
"	$4^{59}-5^{19}$	7^{26}	147	127	7,00—7,76	10,9	25°
21. XI.	$11^{00}-11^{20}$	12^{50}	110	90	7,00—7,79	11,3	35°
"	$11^{9}-11^{29}$	12^{56}	107	87	7,00—7,78	11,1	35°
"	$9^{11}-9^{31}$	10^{28}	77	57	7,00—7,82	11,7	45°
"	$9^{25}-9^{45}$	10^{45}	80	60	7,00—7,80	11,4	45°

Um einen noch besseren Einblick zu bekommen in die Rolle, welche die Oberflächenverhältnisse hinsichtlich der Wasseraufnahme spielen, wurden aus einer Samensorte (Ricinus Gibsoni), welche die meisten Größenunterschiede der einzelnen Individuen zeigte, 7 g der ausgesucht größten und 7 g der kleinsten Samen miteinander verglichen. Im ersten Falle kamen 17 Stück, im zweiten 41 auf dies Gewicht. Trotzdem die 41 nach Beendigung des Versuches einen größeren Feuchtigkeitsgrad zeigten, so atmeten sie doch nicht so intensiv wie die 17 großen Samen.

Wahrscheinlich kommt dies daher, daß die zahlreichen kleinen Samen, welche eine größere Oberfläche darstellen als die auf dasselbe Gewicht kommenden großen Samen, erst ein gewisses größeres

---

[1]) G. Haberlandt, Über die Quellungsunfähigkeit der Leguminosen. 1880.

Tab. XVIII. **Ricinus Gibsoni.**

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Zahl
23. XI.	9^{42}—10^{2}	10^{42}	60	40	7,05—7,72	9,5	48⁰	41
„	10^{57}—11^{27}	10^{45}	48	18	6,95—7,35	5,0	48⁰	17

Quantum Wasser gebrauchen, um diese zu imprägnieren. Die Samenschale an sich birgt nur geringe Spuren von Enzymen (meist gar keine), so daß die zur Durchtränkung der Samenschale aufgenommenen Wassermengen für eine Steigerung der Atmungsintensität nicht in Betracht kommen. Deshalb wurde die Fruchtschale bei den unten zu besprechenden Versuchen mit Helianthus entfernt. Endlich wäre bei den hier (Tab. XVIII) angeführten Versuchen zu bedenken, ob nicht trotz des gleichen äußeren Aussehens der Samen eine Verschiedenheit der Sorten vorliegt; man müßte also für derartige Untersuchungen die Samen selbst ernten.

b. Von der Natur der Reservestoffe.

Bei den übrigen Versuchen mit Ricinus wurde auf ein gleichmäßig großes Material gesehen, die Resultate sind dementsprechend einheitlicher.

Tab. XIX. **Ricinus Gibsoni.**
Korngewicht = 22,85.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Bemerkungen
18. XI.	10^{4}—10^{24}	10^{59}	55	35	7,00—7,60	8,6	50⁰	
„	11^{5}—11^{25}	12^{3}	58	38	7,02—7,63	8,7	50⁰	
20. XI.	9^{5}—9^{25}	10^{8}	63	43	7,12—7,70	8,2	45⁰	
„	9^{17}—9^{37}	10^{25}	68	48	7,13—7,82	9,7	45⁰	H_2O im Apparat
„	10^{32}—10^{52}	12^{18}	106	86	7,15—7,82	9,4	37⁰	
„	10^{57}—11^{17}	1^{2}	125	105	7,02—7,62	8,5	35⁰	
„	1^{6}—1^{36}	5^{3}	357	327	7,00—7,70	10,0	25⁰	
„	1^{24}—1^{42}	5^{6}	343	323	7,15—7,87	10,7	25⁰	
22. XI.	8^{50}—9^{10}	4^{12}	442	422	7,17—7,93	10,8	15⁰	
„	8^{58}—9^{18}	4^{18}	440	420	7,07—7,86	11,1	15⁰	

Bei niederen Temperaturen verläuft die Atmung auffallend langsam; besonders macht sich dies bemerkbar, wenn man dazu die intensivere Atmung bei höheren Temperaturen in Vergleich zieht. Zu erklären ist dieses Ansteigen der Atmungskurve wohl daher, daß wir es mit einer Pflanze wärmerer Klimate zu tun haben. Ferner sehen

wir, daß schon recht geringe Feuchtigkeitsgrade genügen, um eine intensive Atmung zu veranlassen. Dieser Umstand ist wohl wieder den Reservestoffen, in diesem Falle dem Eiweißreichtum, zuzuschreiben.

Helianthus! Diese Früchte besitzen eine stark verholzte Schale, welche für Wasser nur schwer durchlässig ist und daher die Aufnahme stark verzögern würde. Deshalb wurden sie davon befreit und so, geschält, zu den Versuchen benutzt. Da es hierbei nicht ohne Verletzungen abgeht, war zu befürchten, daß dadurch eine traumatische Reizung hinsichtlich der Kohlensäureausscheidung hervorgerufen und die Resultate der Untersuchung verwirrt werden konnten. Allein eine solche Reizung trat scheinbar nicht ein; wenigstens variieren die gefundenen Werte nicht mehr als diejenigen der übrigen Samen. Vielleicht stellte sich trotzdem eine Reizung, d. h. Steigerung der Kohlensäureproduktion ein entweder später, so daß sie für den Versuch nicht weiter in Betracht kam, oder sie fiel in den Versuch hinein, trat dann aber so gleichmäßig auf, daß sie je nach den einzelnen Temperaturen und Geschwindigkeitssteigerungen stets das gleiche und einheitliche Bild ergab (s. Tab. XX). Wahrscheinlich sind aber diese Früchte wie auch die übrigen Samen in den frühen Quellungsstadien ebenso gegen diese Reize wie gegen andere Schädigungen noch recht unempfindlich.

Tab. XX. **Helianthus — geschält.**

Dat.	Vorperiode	Umschlag	Ges.-Dauer in Min.	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Bemerkungen
26. V.	1^{8}—11^{38}	2^{40}	212	182	4,02—5,02	25,1	15°	
„	4^{15}—4^{30}	7^{50}	215	200	4,03—5,05	25,3	16°	
25. V.	2^{31}—2^{46}	6^{12}	201	186	4,01—5,00	24,9	17°	
29. V.	9^{38}—9^{53}	12^{16}	158	143	4,00—4,98	24,5	25°	
„	12^{22}—12^{37}	2^{55}	153	138	4,00—4,92	23,0	25°	
23. V.	12^{00}—12^{15}	2^{00}	120	105	4,03—5,00	24,6	30°	
„	10^{8}—10^{23}	11^{31}	83	68	4,02—5,01	24,8	34°	
„	2^{35}—2^{50}	3^{57}	82	67	4,00—5,03	25,7	36,5°	
24. V.	9^{9}—9^{24}	10^{15}	66	51	4,00—5,00	25,0	41°	
23. V.	7^{58}—8^{14}	8^{59}	61	47	4,00—4,95	23,7	42°	etwas spät gewogen
22. V.	10^{25}—10^{40}	11^{23}	58	38	4,00—5,00	25,0	50°	
„	11^{43}—12^{00}	12^{39}	56	39	4,00—5,02	25,5	50°	
„	3^{18}—3^{30}	4^{13}	55	43	4,04—4,98	23,3	50°	
18. V.	10^{45}—11^{00}	11^{35}	50	35	4,00—4,98	24,5	55°	Früchte abgetöt.; Vergleichspflanzen keimten gut.
„	12^{5}—12^{25}	12^{55}	50	28	4,02—5,01	24,8	55°	

Wir sehen aus diesen Versuchen, wie viel schneller die Helianthuskerne besonders auch bei niederen Temperaturen mit einer intensiveren Kohlensäureproduktion beginnen können als Weizen; andrerseits müssen sie aber in der kürzeren Zeit größere Mengen an Wasser aufnehmen,

um den zum Einsetzen einer intensiveren Kohlensäureabgabe erforderlichen Feuchtigkeitsgrad zu erreichen. Die Wasseraufnahme wird durch das Fehlen der Fruchtschale bedeutend erleichtert und findet wahrscheinlich allseitig statt, während Weizen fast nur im Bezirk des Embryo Wasser aufzunehmen vermag. Bei höheren Temperaturen sind die Unterschiede besonders der Turkestan. Weizensorte gegenüber nicht mehr groß. Wenn trotzdem die Atmung bei Helianthus noch intensiver verläuft, so ist daran zu erinnern, daß diese Früchte viel Fett gespeichert haben, und daß fettreiche Samen besonders intensiv atmen (besonders die Sauerstoffaufnahme ist groß).

Die Helianthusschalen gaben auch für sich allein innerhalb neun Stunden Spuren von Kohlensäure ab[1]) und hatten in dieser Zeit 42,3% Wasser aufgenommen.

Weiter ist bekannt, daß fettreiche Samen im allgemeinen auch reicher an Eiweiß sind als Kohlehydrat führende Nährgewebe. Dies kann man z. B. deutlich ersehen, wenn man Triticum vulgare mit Brassica Rapa daraufhin vergleicht[2]):

Untersuchungsmaterial	in % der Trockensubstanz		
	Kohlehydrat	Fett	Eiweiß
Triticum vulgare	68,65	1,85	12,04
Brassica Rapa	24,41	33,53	20,48

Gerade Raps und Mohn sollen aber das Fett ihres Samens nach Czapek nicht als Reservestoff benutzen, was eigentlich nicht recht einzusehen ist, da auch im Preßsaft von Raps[3]) wie von anderen fetthaltigen Samen die Fette gespalten werden. Man kann auch aus Tabelle XXI eine besonders bei hohen Temperaturen sehr intensive Kohlensäureabgabe ersehen, die ich bis zu einem gewissen Grade doch dem Fettgehalt zuschreiben möchte, wenn auch sonst dieser nicht weiter als Reservematerial benutzt werden sollte.

c. Von der Schnelligkeit der Wasseraufnahme.

Ein anderer wohl ebenso bedeutender Faktor für das so baldige Einsetzen einer intensiven Kohlensäureproduktion ist die schnelle Wasseraufnahmefähigkeit der Brassicasamen mittels ihrer Schleimschicht.

Auch bei niederen Temperaturen geht die Quellung ziemlich schnell vor sich, und somit wird es den Samen bald möglich, eine intensivere Kohlensäureabgabe zu zeigen, auch wenn dazu größere Wassermengen

[1]) Vergl. H. Wohllebe, l. c. [2]) Czapek, Biochemie der Pflanzen I, S. 97.

[3]) Fermentreaktion im Preßsaft fettreicher Keimlinge. Astrid und Hans Euler, Ztschr. für physiolog. Chemie 51, 1907.

(verglichen mit Weizen) erforderlich sind. Die Atmung steigt aber auch mehr mit dem Wassergehalte als bei konstantem Feuchtigkeitsgrade mit der Temperatur. Die Wasseraufnahme verläuft bei Brassica sogar noch etwas schneller als bei den geschälten Helianthusfrüchten. Auch scheint die Regel von Van't Hoff noch für höhere Temperaturen zuzutreffen.

Tab. XXI. **Brassica Napus.**

Korngewicht = 0,40.

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.
30. X.	8^{30}—9^{00}	12^{00}	210	180	7,00—8,54	22,0	15°
„	8^{40}—9^{10}	12^{18}	218	188	7,00—8,59	22,7	15°
1. XI.	8^{51}—9^{11}	12^{12}	201	181	7,00—8,65	23,6	15°
28. 10.	8^{44}—9^{4}	11^{36}	172	152	7,00—8,65	23,6	20°
„	8^{53}—9^{13}	11^{46}	173	153	7,00—8,63	23,3	20°
2. XI.	8^{58}—9^{18}	11^{20}	142	122	7,00—8,62	23,1	20°
30. X.	3^{55}—4^{20}	5^{50}	115	90	7,00—8,57	22,4	25°
31. X.	8^{40}—9^{5}	10^{45}	120	95	7,00—8,63	23,3	25°
„	11^{1}—11^{21}	12^{52}	111	91	7,00—8,61	23,0	25°
27. X.	12^{40}—1^{10}	2^{10}	90	60	7,00—8,60	22,9	30°
„	3^{00}—3^{20}	4^{30}	90	70	7,00—8,63	23,3	30°
„	5^{10}—5^{25}	6^{41}	91	76	7,00—8,54	22,0	30°
„	2^{52}—3^{12}	3^{57}	65	45	7,00—8,64	23,4	35°
30. X.	3^{47}—4^{12}	4^{59}	62	37	7,00—8,58	22,5	35°
„	5^{30}—5^{55}	6^{40}	70	45	7,00—8,66	23,7	35°
31. X.	8^{52}—9^{13}	9^{52}	60	39	7,00—8,64	23,4	40°
2. XI.	9^{5}—9^{25}	10^{00}	55	35	7,00—8,59	22,7	40°
„	10^{7}—10^{27}	11^{00}	53	33	7,00—8,54	22,0	40°
31. X.	10^{12}—10^{32}	11^{00}	48	28	7,00—8,67	23,9	45°
„	11^{17}—11^{37}	12^{03}	46	26	7,00—8,54	22,0	45°
1. XI.	9^{54}—10^{14}	10^{39}	44	24	7,00—8,56	22,3	45°
31. X.	12^{15}—12^{35}	12^{52}	37	17	7,00—8,43	20,43	50°
2. XI.	11^{14}—11^{34}	11^{50}	36	16	7,00—8,48	21,1	50°
10. XI.	4^{12}—4^{32}	4^{42}	30	10	7,00—8,42	20,3	55°
„	5^{3}—5^{23}	5^{32}	29	9	7,00—8,40	20,0	55°
11. XI.	3^{2}—3^{30}	3^{37}	35	15	7,00—8,46	20,9	55°
10. XI.	10^{46}—11^{6}	11^{14}	28	8	7,00—8,45	20,7	60°
„	11^{28}—11^{48}	11^{56}	28	8	7,00—8,45	20,7	60°

Wie Brassica nimmt auch Trigonella schnell Wasser auf, und zwar mit Hilfe seiner Schleimschale und seines Schleimendosperms[1]). Die Aufnahme ist nicht ganz so intensiv und dauert länger, da vor allem eine größere Menge Wasser absorbiert werden muß als bei

[1]) H. Nadelmann, Über die Schleimendosperme der Leguminosensamen. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. Bd. VII, 1889, Heft 5, S. 248—255.

Raps. Die Kohlensäureproduktion verläuft auch nicht so energisch trotz des hohen Feuchtigkeitsgehaltes von 27%. Dieser ist aber im Vergleich zu der hohen Wasserkapazität der Trigonellasamen (vergl. S. 214) noch ziemlich niedrig. Die Schwankungen bei der Feststellung des Wassergehaltes, die wir bei allen Samen beobachten konnten, werden hier durch die schnelle Quellung natürlich vergrößert.

Tab. XXII. **Trigonella Foen. graec.**

Datum	Vorperiode	Umschlag	Gesamtdauer in Minuten	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.
28. XI.	9^{28}—9^{48}	3^{54}	386	366	7,00—8,89	27,0	15°
〃	9^{38}—9^{58}	4^{00}	382	362	7,00—8,95	27,9	15°
27. XI.	1^{58}—2^{18}	5^{10}	192	172	7,00—9,09	29,9	25°
〃	2^{10}—2^{30}	5^{31}	201	181	7,00—9,12	30,2	25°
29. XI.	12^{50}—1^{10}	3^{47}	177	157	7,00—9,04	29,1	25°
27. XI.	11^{23}—11^{48}	1^{11}	108	83	7,00—8,96	28,0	35°
29. XI.	10^{33}—10^{53}	12^{40}	127	107	7,00—9,07	29,8	35°
25. XI.	9^{18}—9^{38}	10^{45}	87	67	7,02—9,10	29,6	37°
25. XI.	9^{2}—9^{22}	10^{2}	60	40	7,00—8,65	23,6	45°
29. XI.	2^{55}—3^{15}	3^{53}	58	38	7,00—8,65	23,6	45°
25. XI.	10^{52}—11^{12}	11^{54}	62	42	7,00—8,95	27,9	46°
29. XI.	8^{22}—8^{42}	8^{57}	35	15	7,00—8,82	26,0	55°
〃	9^{12}—9^{32}	9^{47}	35	15	7,00—8,55	22,1	55°
〃	10^{3}—10^{23}	10^{39}	36	16	7,00—8,58	22,6	55°

Endlich wurden Dattelkerne hinsichtlich ihrer Wasseraufnahme und der damit verbundenen Steigerung der Atmungsintensität untersucht.

Tab. XXIII. **Phoenix dactylifera.**

Datum	Vorperiode	Umschlag	Ges.-dauer in Min.	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temp.	Bemerkungen
4.XII.	9^{36}—9^{56}	6^{00}	504	484	7,00—7,47	6,7	30°	Nur mit Wasser,
〃	9^{45}—10^{5}	5^{25}	460	440	7,02—7,45	6,1	30°	
5.XII.	9^{25}—9^{45}	1^{20}	240	220	7,04—7,60	7,9	30°	mit Wasser und Alkohol gereinigt
6.XII.	4^{25}—4^{45}	9^{30}	300	280	7,07—7,55	6,8	30°	
〃	4^{34}—4^{54}	9^{32}	298	278	7,35—7,91	7,6	30°	

Die Samen nehmen sehr langsam Wasser auf, und auch die Kohlensäureproduktion verläuft recht schwach. Auch hierfür muß man wohl einerseits den festgefügten anatomischen Bau, andrerseits das Reservematerial, in diesem Falle die schwer angreifbare Reservezellulose[1]) verantwortlich machen.

[1]) J. Grüß, Studien über Reservezellulose. Wiss. Original-Mitteilung im Botan. Zentralblatt, Bd. 70, 1897, S. 242.

Es wurden immer 9 Kerne benutzt, welche ungefähr 7 g wogen. Die Samen wurden mit einer Bürste in fließendem Wasser gründlich gereinigt und kamen bei den beiden ersten Versuchen frisch in den Apparat. Sie waren äußerlich fettig, so daß sie nur schwer Wasser annahmen. Die übrigen Samen reinigte ich deshalb kurz mit absolutem Alkohol und trocknete sie dann im Zimmer. Der Ätherauszug aus einer Vergleichsportion zeigte nach dem Verdunsten einen talgartigen Rückstand, der sich gegen Alkanna indifferent verhielt. Die mit Alkohol behandelten Samen zeigten (Versuch 3—5) eine schnellere Wasseraufnahme und damit ein früheres Einsetzen der intensiveren Kohlensäureproduktion. Nobbe[1]) bestreitet dagegen irgend welche Einwirkung von absolutem Alkohol auf die Quellbarkeit der Samen und führt die Hemmnisse des Schwellprozesses lediglich auf den anatomischen Bau zurück und die Art, wie die verschiedenen Schichten das Wasser aufnehmen und weiterführen.

Sollte es sich nicht bei den Dattelversuchen um eine andere Dattelsorte handeln, so wäre auch in diesem Falle das frühere Erreichen einer intensiveren Atmung von einer schnelleren Wasseraufnahme abhängig zu machen.

V. Das Verhalten von quellenden Samen.

a. Bei Behandlung mit Toluol.

Nach den Atmungsversuchen bei 55° C. und darüber war das Material, wie die Keimversuche zeigten, abgetötet. Trotzdem ließ sich bei diesen Temperaturen eine besonders auffällige Änderung in dem Einsetzen der intensiveren Kohlensäureabgabe nicht konstatieren; die Kurve (II) steigt weiter, wenn auch weniger steil. Vielleicht liegt dies daran, daß von dem abgetöteten Plasma nicht neue Enzyme gebildet werden können, daß die regulatorische Kraft des Lebens fehlt, oder daß die Samen doch nicht schnell genug auf die gewünschte hohe Temperatur gebracht werden können. An eine schnelle Schädigung der Enzyme durch diese Temperaturen ist wohl nach dem Versuche S. 226 nicht zu denken. Dieser zeigt schon, daß die Samen noch recht resistent sind.

Zur weiteren Klärung dieser Fragen hätten Kohlensäureabgabeversuche bei tieferen Temperaturen mit abgetöteten Samen angestellt werden müssen. Dabei mußte von lufttrocknem Material, das noch nicht gequollen war, ausgegangen werden, da gequollene und wieder getrocknete Samen eine ganz andere Atmungskurve zeigen[2]). Flüssigkeiten durften also zum Abtöten vor dem eigentlichen Versuche nicht

[1]) Nobbe, l. c., S. 116. [2]) Kolkwitz, l. c.

verwendet werden. Hohe Temperaturen werden von relativ trocknen Samen ohne besondere Schädigung einige Zeit ertragen[1]. Läßt man sie weiter bis zur Abtötung einwirken, so werden voraussichtlich auch die Enzyme geschädigt, oder es destilliert organische Substanz hinweg, wie ich bei Trocknungsversuchen mit Weizen bei 180—220° bemerken konnte. Auch gegen niedere Temperaturen (bis —80°)[2] sind Samen widerstandsfähig; es war daher auch die bekannte Abtötungsmethode Palladins[3] nicht anwendbar. Chloroform konnte wegen Bildung von Phosgen, welches in Salzsäure und Kohlensäure zerfällt und so die Lösung in der Pettenkoferröhre neutralisiert, nicht verwandt werden. Die einzige Möglichkeit zum Abtöten bei niederen Temperaturen während des Versuches schien mir Toluol zu bieten. Ich ließ daher kleine, schnell quellende Samen 20 Minuten in Toluolwasser vorquellen, wickelte sie in Toluollappen und brachte sie in den Apparat, vor den noch eine Waschflasche mit Toluol geschaltet war. In dem Respirationsraum stand außerdem ein kleines Gefäß mit Toluol. Die Luft im Apparat war also ganz mit Toluoldämpfen gesättigt; — Toluol soll ja für Enzyme von allen Giften am wenigsten schädlich wirken[4]. Der Apparat zeigte ohne Samen bei 2½ Stunde langem Durchleiten keinen Einfluß der Toluoldämpfe auf die alkalische Lösung, wie es bei Chloroform der Fall war.

Tab. XXIV. **Toluolversuche.**

Datum	Objekt	Vorperiode	Umschl.	Ges.-dauer in Min.	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temperatur	Bemerkungen
12. XII.	Brassica	3^{51}—4^{11}	5^{00}	69	49	7,00—9,05	29,3	30°	Toluollappen ÷ Toluolflasche
16. XII.	StrubeSchles.	4^{51} - 5^{11}	7^{35}	164	144	7,02—8,30	18,2	35°	„ ÷ Toluolgefäß
17. XII.	„	3^{44}—4^{4}	7^{12}	208	188	7,00—8,55	22,1	35°	„ „ „
18. XII.	Brassica	9^{51}—10^{11}	11^{24}	93	73	7,00—8,75	25,0	35°	„ ÷ 3 Min vorher in Toluolwasser
„	„	1^{35} - 1^{55}	2^{34}	59+20	(59)	7,00—8.25	17,9	35°	„ ÷ 20 Min. vorh. in Toluolwasser
„	„	5^{45}—6^{5}	6^{46}	61+20	(61)	7,00—8,29	18,5	35°	„ „ „
„	Trigonella	3^{10}—3^{30}	5^{4}	116+15	(116)	7,00—9,04	29,1	35°	„ + 15 Min. „

In den 20 Min. hatten die Brassicasamen im Toluolwasser 16% an Gewicht zugenommen.

Aus den Versuchen scheint im allgemeinen hervorzugehen, daß Toluol, wenn es mit den Samen in direkte Berührung kommt, etwas hemmend auf die Wasseraufnahme wirkt. Wahrscheinlich werden die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran in diesem Sinne be-

[1] Edwards u. Colin, Annal. des scienc. nat. Botan. 1834, Ser. II, T. 1, S. 264.

[2] de Candolle, L'effet des très basses temperatures sur la faculté germinative des graines de plusieurs espèces. Verhandl. der Schweiz. Naturf. Ges. in Bern. LXI. Jahresvers. Bern 1879 (erschienen 1880), S. 110—111.

[3] Palladin, Atmungspigmente, l. c. [4] Oppenheimer, l. c.

einflußt[1]). Doch blieb die Einwirkung auf die Lebensstruktur des Protoplasmas weit hinter dem erwarteten Erfolge zurück. Denn als die Samen in feuchte Kammern gebracht wurden, keimten die meisten von ihnen auf dem nassen Fließpapier aus, und zwar Weizen und besonders Trigonella sogar viel energischer als unter gewöhnlichen Bedingungen. Hier hatte also das Toluolwasser als Reiz gewirkt. Toluol ist mithin kein sicheres Abtötungsmittel für widerstandsfähige Organismen, wie z. B. auch aus folgenden Versuchen hervorgeht, die wiederholt angestellt wurden:

Auf je 50 Rapssamen, welche sich in 10 kleinen, numerierten Leinenbeuteln befanden, wirkte gesättigtes Toluolwasser ein, und zwar in aufsteigender Zeitfolge 5, 10 . . . . 45, 50 Min. lang. Die Samen wurden darauf 6—10 Stunden in fließendem Wasser gewaschen und dann zum Keimen auf nasses Fließpapier gebracht. Dabei zeigte sich, daß zwar etwa die Hälfte der Samen abgetötet war; die übrigen keimten aber aus, und zwar konnte man bei den einzelnen aufeinander folgenden Portionen nicht irgend welche Abstufung der Einwirkung des Toluolwassers bemerken. Gewöhnlich keimten die Samen mit kürzester (5 Min.) und längster Toluolbehandlung, also die beiden Grenzen, am ergiebigsten.

Wir sehen daher aus diesen Versuchen, daß die Samen in frühen Quellungsstadien außerordentlich widerstandsfähig sind, und daß man kein Mittel hat, sie abzutöten, ohne auch die Enzyme zu vernichten.

7,03 g Weizen (Blaue Dame) kamen ¼ Stunde lang in kochendes Wasser und nahmen darin 36,3% Wasser auf, waren also sicher abgetötet. Trotzdem hatten sie in 19 Stunden bei 35° C. etwa 0,14 mg Kohlensäure (Anfangstiter 0,42 ccm $^1/_{40}$ n. Oxs. — Endtiter 0,17 ccm) an den passierenden Luftstrom abgegeben. Auch nach Kolkwitz[2]) geben zerschrotete, mit 2% Quecksilberchloridlösung behandelte Gerstenkörner noch 30 mg Kohlensäure innerhalb 24 Stunden pro Kilogramm ab.

Es verwischen sich also die Grenzen von Leben und Tod wie von Ruhe zum erwachenden Leben, und die Kohlensäureabgabe allein ist kein Kriterium für das Leben.

b. Im Wasserstoffstrom.

Endlich wurden Versuche im Wasserstoffstrom angestellt, um zu ehen, ob die intramolekulare Atmung mehr oder weniger Zeit benötigt, um dieselben Kohlensäurequanten zu liefern wie die normale

[1]) W. W. Lepeschkin, Über die Einwirkung anaesthesierender Stoffe auf die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. Jahrg. 29, Heft 6, 1911. Vergl. auch Johannsen, Äther- und Chloroformnarkose und deren Nachwirkung. Wiss. Original-Mitt. im Bot. Zentralblatt. Bd. 68, 1896, S. 337.

[2]) R. Kolkwitz, Über die Atmung, l. c.

Atmung. Es wurde einfach statt des gewöhnlichen kohlensäurefreien Luftstromes ein kohlensäurefreier Wasserstoffstrom über das Atmungsmaterial geleitet. Der Wasserstoff wurde für diese Versuche aus einer Bombe der Griesheimer Fabrik Elektron entnommen; er war arsenfrei. Die letzten Spuren von Sauerstoff, mit denen er vermischt war, wurden in einer 1½ m langen Pettenkoferröhre, welche bei jedem Versuche frisch mit Pyrogallussäure und Kalilauge gefüllt wurde, absorbiert. Dahinter war noch eine Waschflasche mit Pyrogallol geschaltet. Hier diente diese Flüssigkeit als Indikator auf Sauerstoff. Die Mischung wurde zu diesem Zweck in heißem Zustande unter Paraffinöl hergestellt und nahm dabei einen gelbbraunen Farbton an, der in tief dunkles Braun umschlug, wenn die Pettenkoferröhre nicht ganz absorbierte. Die alkalische Phenolphtaleïnlösung zeigte innerhalb 2½ Stunden keine Entfärbung durch den bloßen Wasserstoffstrom.

Tab. XXV. **Wasserstoffversuche.**

Datum	Objekt	Vorperiode	Umschlag	Ges.-dauer in Min.	Hauptperiode	Gewichtszunahme in g	in %	Temperatur	Bemerkungen
12. XII.	Brassica	$5^{32}-5^{52}$	6^{31}	59	39	7,00—8,40	20,0	30°	
13. XII.	„	$9^{44}-10^{4}$	10^{24}	40	20	7,00—8,98	?	36°	
„	„	$3^{9}-3^{29}$	4^{6}	57	37	7,00—8,60	22,9	35°	
„	„	$4^{32}-4^{52}$	5^{28}	56	36	7,00—8,41	20,1	30°	
14. XII.	„	$2^{45}-3^{5}$	4^{12}	87	67	7,00—8,60	22,9	25°	
„	Ricinus	$8^{10}-8^{30}$	9^{52}	104	84	7,00—7,69	9,09	35°	
15. XII.	„	$9^{58}-10^{18}$	12^{13}	135	115	7,04—7,84	11,3	25°	
„	Trigonella	$2^{2}-2^{22}$	4^{32}	150	130	7,00—8,62	23,1	25°	
„	„	$6^{55}-7^{15}$	8^{23}	88	68	7,00—8,82	26,0	35°	Titer absichtl. stärker

Die Wasseraufnahme verläuft also etwas schneller im Wasserstoffstrom und, wie es scheint, unabhängiger von der Temperatur als bei normaler Atmung. Somit kann auch die gesteigerte Kohlensäureproduktion eher beginnen, da die nötigen Feuchtigkeitsgrade früher erreicht werden. Dies ist wohl nicht anders als rein physikalisch zu erklären. Die Kohlensäure scheint infolge der schnelleren Wasseraufnahme in der Zeiteinheit nur intensiver ausgeschieden zu werden. Wir sehen also, daß die Kohlensäureproduktion bei Sauerstoffabschluß nicht etwa langsamer, sondern eher energischer stattfindet. Dies wäre eigentlich kaum zu erwarten gewesen nach Detmers[1]) Untersuchungen, weil danach in den Zellen höherer Pflanzen bei Abwesenheit des freien Sauerstoffs kein stärkeumbildendes Ferment erzeugt werden kann und nach S. 231 nur sehr geringe Mengen von Diastase im lufttrockenen Samen vorhanden sind. Vielleicht waren aber doch noch

[1]) W. Detmer, Über die Entstehung stärkeumbildender Fermente in den Zellen höherer Pflanzen. — Botan. Zeitung 1883, 37, S. 601.

Spuren von Sauerstoff im Material (z. B. die Chromogene Palladins, welche Kostytschew als Sauerstoffspeicher ähnlich dem Oxyhämoglobin auffaßt[1])), welche eine Oxydation vor der Hand bewirkten; vielleicht entstammte die Kohlensäure auch nur einem intramolekularen Eiweißzerfall. Außerdem kann ja auch der Oxydationsapparat lange vor Abschluß der Kohlensäureausscheidung außer Funktion gesetzt werden, und die intramolekulare Atmung von gequollenen Samen zeigt nach Chudiakow[2]) fast dasselbe Bild wie die normale, also z. B. Steigerung der Intensität durch die Temperatur. Ferner beobachtete Palladin[3]), daß der Preßsaft aus erfrorenen Stengeln von Vicia Faba in Wasserstoffatmosphäre gleiche Kohlensäuremengen liefert wie in normaler. Dasselbe fand man auch bei dem Saft von Aspergillus niger und erfrorenen Zwiebeln von Allium Cepa. Es soll ja nach den Arbeiten von Pfeffer, Polszeniusz, Godlewski u. a. kein wesentlicher Unterschied zwischen Atmung und Gärung bestehen. Es ist offenbar nicht im Sauerstoff die primäre Ursache der Atmung zu suchen, sondern in den vom lebenden Plasma gebotenen Dispositionen[4]).

Wenn aber auch der Quellungsprozeß unabhängig von dem Sauerstoffzutritt verläuft, so sieht man doch jede Weiterentwicklung der dem Luftzutritt entzogenen Samen stocken (Nobbe).

c. Zur Sauerstoffaufnahme.

Auch das Einsetzen einer merklichen Sauerstoffaufnahme wurde mit einem etwas modifizierten Apparat nach Godlewski[5]) unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln verfolgt. Es scheint für Weizen (Strubes Schles.) zeitlich etwas langsamer als dasjenige der Kohlensäureproduktion zu erfolgen, war aber schon in frühen Quellungsstadien sicher nachzuweisen. Dies würde den Untersuchungen von G. Bonnier und L. Mangin[6]) sowie denen von Godlewski entsprechen, welche im Anfang der Keimung von Triticum als Wert für den Quotienten $\frac{CO_2}{O} = 1{,}05$ fanden, also schon ein geringes Überwiegen der Kohlensäureabgabe feststellen konnten. Die Temperatur würde bei derartigen Versuchen natürlich zu berücksichtigen sein; denn bei höheren Temperaturen soll die Sauerstoffaufnahme nicht so begünstigt sein,

[1]) S. Kostytschew, Über den Vorgang der Zuckeroxydation bei der Pflanzenatmung. Zeitschr. für physiol. Chemie 67, 1910.

[2]) Chudiakow, l. c.

[3]) W. Palladin, Über den verschiedenen Ursprung der während der Atmung der Pflanzen ausgeschiedenen Kohlensäure. Ber. der Deutsch. Bot. Ges. XXIII. S. 240—247.

[4]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1897, I, 7.

[5]) Godlewski, Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenatmung. Pringsh. Jahrb. 13, S. 491, 1882.

[6]) l. c.

wie die Kohlensäureproduktion[1]). Am ehesten würde man vielleicht eine merkliche Steigerung der Sauerstoffaufnahme an fetthaltigen Samen studieren können, weil hier zur Überführung des Fettes in Kohlehydrate, zum Teil auch zu seiner völligen Verbrennung viel Sauerstoff verbraucht wird, ohne daß eine entsprechende Kohlensäuremenge für denselben auftreten kann[2]), daher denn hier $\frac{CO_2}{O} < 1$.

Solche Beobachtungen der Sauerstoffaufnahme müßten natürlich noch viel genauer, und zwar gasometrisch[3]) angestellt werden; dann würde man aus der $\frac{CO_2}{O}$-Kurve für aufeinanderfolgende Keimungsstadien bessere Schlüsse ziehen können, welche Rolle die chemische Zusammensetzung der Reservestoffe spielt.

C. Schluß.

In den ersten Quellungsstadien, wo sich schon eine deutliche Steigerung der Atmungsintensität bemerkbar macht, scheinen sich im allgemeinen fast nur chemische Prozesse im Samen abzuspielen, und die Atmung selbst stellt wohl nur das Ergebnis der Tätigkeit einer Summe enzymatischer Vorgänge dar. Sie hängt außer von der Enzymmenge von der Temperatur und von der Quantität und Qualität des Materials ab, wie es von einem Teil der wirksamen Enzyme zubereitet wird; der andere Teil arbeitet in den einzelnen Phasen der Atmung selbst.

Ist das Plasma „abgetötet“, so können keine neuen Enzyme mehr gebildet werden, wohl aber bleiben die alten Enzyme unter Umständen wirksam. Wahrscheinlich ist in solchen Fällen die Kohlensäureausscheidung hauptsächlich durch anaërobe Prozesse und nicht durch Oxydation bedingt[4]). Mit der Zeit werden die noch übrig gebliebenen Enzyme durch Temperatur- und Lichteinfluß geschädigt und verlieren, da kein neuer Nachschub geschaffen wird, an Gesamtenergie und -wirkung. Die Pflanzen wären in bezug auf die Atmung dann „tot“, wenn die Enzyme zerstört sind.

Scheinbar besteht auch eine Beziehung zwischen Keimfähigkeit und Atmungsintensität, man hat sie aber bisher noch nicht sicher feststellen können[5]). Vielleicht wäre dies mit eine Erklärung für den Verlust der Keimfähigkeit, daß das Plasma nicht mehr imstande ist, gewisse (vielleicht einzelne) für die Keimung und Ernährung des Keimlings nötige Enzyme zu schaffen, wenn auch sonst die Samen

[1]) Ad. Mayer, Agrikulturchemie, I. Band, 1901. [2]) Vergl. Czapek, l. c.

[3]) E. Abderhalden, Handbuch . . . l. c., führt Methoden an.

[4]) L. Iwanoff, Berichte der Deutsch. Bot. Ges. 29. Jahrg. Heft 8, S. 570, 1911.

[5]) Hausmann u. Iwanissowa, Bull. du Jardin imp. bot. de St. Pétersbourg IX. 5, S. 97–106, 1909.

noch einige Zeit am Leben bleiben und atmen könnten. Auch Detmer[1]) sucht den Verlust der Keimfähigkeit aus dem ungemein herabgesetzten Stoffwechsel zu erklären. Damit wäre auch der so häufig gemachte Einwurf erledigt, warum die Samen aufhören sollten zu leben und zu atmen, da doch noch Reservematerial in Hülle und Fülle vorhanden wäre. Dieses muß eben erst in einen Zustand versetzt werden, in welchem es für die Atmung angegriffen werden kann. Allerdings gibt es auch noch andere Gründe für den Verlust der Keimfähigkeit; Nobbe führt drei Momente an: Quellungsunfähigkeit der Samen, bereits eingetretene Zersetzung der organischen Reservestoffe und die Leblosigkeit des Embryo. Im allgemeinen scheint die Keimfähigkeit von einer gewissen Disposition des lebenden Plasmas abzuhängen, welche man sich in labilem Zustande befindlich vorstellen kann. Nach einer gewissen Zeit, die von äußeren Bedingungen wie von der Individualität abhängt, schlägt dieser dann in einen stabilen, nicht mehr keimfähigen Modus um. Lebenskraft und Keimfähigkeit nehmen dabei nicht in gleichem Maße ab; sie sowie die Keimungsenergie sind nach Hiltner[2]) scharf zu trennen.

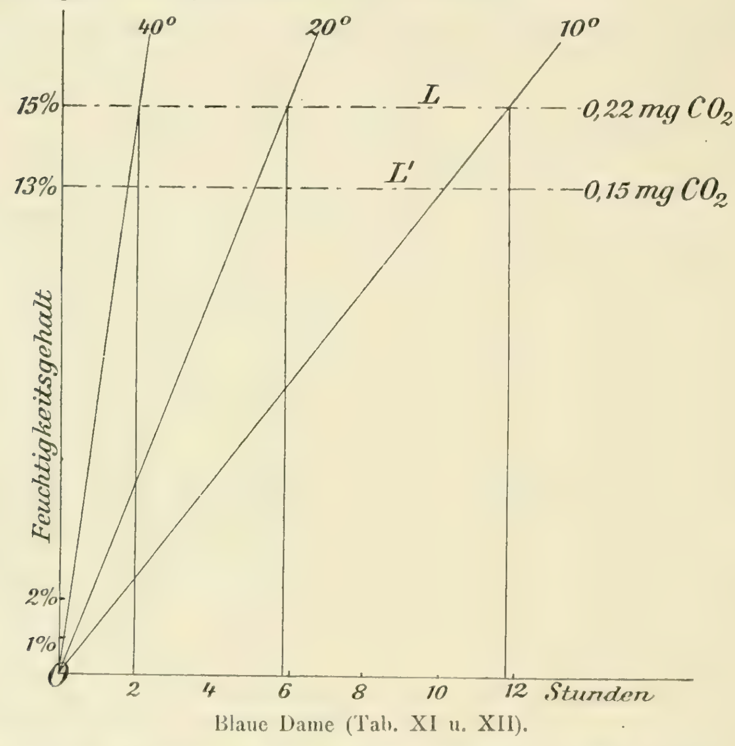
Vor allem scheint bei diesen Vorgängen der Wassergehalt und der Wechsel der Feuchtigkeit von Bedeutung zu sein. Denn stark getrocknete Samen verlieren schneller ihre Keimfähigkeit als lufttrockene. Demselben Grund möchte ich — abgesehen vom Alter — die relativ geringe Keimfähigkeit der von mir untersuchten Weizensorte (Blaue Dame) zuschreiben; die Samen besaßen je nach den Trockengewichtsbestimmungen nur einen geringen Feuchtigkeitsgrad (s. S. 209). Auch der Wasserverlust (Erntewitterung) bei der Reife mag in Beziehung stehen zu den Keimresultaten.

Aus den in der vorliegenden Arbeit angeführten Tabellen war einerseits eine sehr frühe Steigerung der Kohlensäureproduktion bei quellenden Samen zu konstatieren und konnte beim Abtöten der Samen durch hohe Temperaturen (s. S. 34), abgesehen von der schwächeren Steigerung der Atmungskurve (II) kein Unterschied in der Kohlensäureabgabe wahrgenommen werden, ein Umstand, der dafür spricht, daß die Atmung als solche nur auf enzymatischen Vorgängen beruht. Man muß also vorsichtig sein, wenn man von einer Änderung der Atmungsintensität auf eine entsprechende Änderung der übrigen, zumal der Lebensvorgänge im Pflanzenorganismus schließen will. Andrerseits ist als ein wichtiges Resultat der mitgeteilten Untersuchungen anzusehen, daß die bis zu einem bestimmten (frühen) Quellungsstadium

[1]) Detmer, Landw. Jahrb. 1882, 11, S. 229.

[2]) Hiltner, Arb. an der biolog. Abt. für Land- und Forstwissenschaft am Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 3, 1902.

bei gleichmäßig fortschreitender Quellung ausgeschiedene Kohlensäuremenge unabhängig von der Temperatur weitgehend konstant ist und eine für jede einzelne Samenart charakteristische Größe hat. Als Hauptfaktoren sprechen dabei mit: der anatomische Bau und die Natur der Reservestoffe. Jener bestimmt die Geschwindigkeit der Quellung, diese die Intensität der Atmung. Bei tiefen Temperaturen wird eben in der dazu gehörigen langen Zeit nur ebensoviel Kohlensäure produziert, wie bei höheren Temperaturen in kurzer Zeit, oder wie Detmer sagt: „das gleiche Entwicklungsstadium erheischt auch das gleiche Opfer an organischen Reservestoffen.“



Blaue Dame (Tab. XI u. XII).

Graphisch dargestellt würde dies etwa durch eine Linie (L, L′) auszudrücken sein, welche parallel zur Abszisse der Zeit verläuft, bei einem auf der Ordinate abgetragenen bestimmten Feuchtigkeitsgrade alle die für die verschiedenen Temperaturen erhaltenen Wasseraufnahmekurven schneidet und gleichzeitig eine gewisse, empirisch gewonnene Größe von bis dahin (bei fortschreitender Quellung!) geleisteter Kohlensäureproduktion (0,22 mg CO_2 z. B.) ausdrückt. Diese Größe nimmt im Sinne der Ordinaten zu. Man könnte so gewisse Schwellenwerte sehr gut graphisch festlegen.

Kohlensäureassimilation und Atmung bei Varietäten derselben Art, die sich durch ihre Blattfärbung unterscheiden.

Von **Wilhelm Plester.**

Einleitung.

Kultiviert man Pflanzen der erblich konstanten blaßgrünen *chlorina*-Sippe von *Mirabilis Jalapa* neben Pflanzen der normal grünen *typica*-Sippe auf demselben Versuchsfeld unter gleichen Bedingungen, so zeigt sich ein deutlicher Unterschied im Wuchs der beiden Formen, auch wenn sie in dieselbe Größenklasse, z. B. zu den *altae,* gehören. Die Pflanzen der *chlorina*-Sippe bleiben im Wuchs zurück; ihre Höhe beträgt z. B. nur 90% von der Höhe der normalen grünen *typica* (Correns 08). Eine Chlorophyll-Bestimmung aus Blättern beider Sippen zeigt aber einen viel auffallenderen Unterschied im Chlorophyllgehalt. Correns fand für die *chlorina*-Sippe nur $^{28}/_{100}$ bis $^{30}/_{100}$ des Chlorophyllgehaltes der *typica*-Sippe. Da man nun annehmen kann, daß bei einem geringeren Chlorophyllgehalt die Kohlensäureassimilation herabgesetzt ist, der Wuchs der beiden Sippen aber nicht übermäßig stark voneinander verschieden ist, so liegt es nahe zu fragen, ob überhaupt die Intensität der Photosynthese dem Chlorophyllgehalte parallel geht und, wenn das der Fall sein sollte, ob der *chlorina* Hilfsmittel zur Verfügung stehen, die es ihr ermöglichen, den durch die geringere Kohlensäureassimilation bewirkten Ausfall zu decken. Am nächsten liegt es zu vermuten, daß die *chlorina*-Sippe imstande ist, mit der gebildeten organischen Substanz sparsamer hauszuhalten, vielleicht dadurch, daß sie auch eine geringere Atmungsintensität entwickelt, als die normalgrüne Stammform.

Von diesen Gedanken ausgehend veranlaßte mich Herr Professor Dr. C. Correns im Sommer 1910 und 1911 Versuche anzustellen über

1. die Kohlensäureassimilation bei Varietäten derselben Art, die sich durch verschieden grün gefärbte, sowohl einfarbige als auch gescheckte Blätter unterscheiden,

2. die Atmungstätigkeit solcher Blätter.

Außerdem habe ich noch Kohlensäureassimilation und Atmungstätigkeit der Blätter stark anthocyanhaltiger Varietäten mit der ihrer Stammformen verglichen.

Senebier (1785), Ingenhousz (1786) und Saussure (1804) hatten als die Ersten die Kohlensäureassimilation der grünen Pflanzen nachgewiesen. Dutrochet (1837) stellte dann die Abhängigkeit der CO_2-Zerlegung vom Chlorophyllgehalt der Pflanzenteile fest; ferner bewies Engelmann (1883) durch seine Bakterienmethode, „daß nur die farbstoffhaltigen Zellen und in diesen wiederum ausschließlich die grün gefärbten Plasmateilchen Sauerstoff im Licht aussenden". Aber nur in Verbindung mit dem lebenden Chloroplasten vermag das Chlorophyll seine physiologische Wirksamkeit auszuüben; Kny (1897) konnte mit Hilfe der empfindlichen Bakterienmethode an chlorophyllhaltigen Öltröpfchen, die dann Czapek (1902) sogar in farbloses Plasma einlagerte, keine Sauerstoffausscheidung erkennen. So ist man allmählich zur Erkenntnis gekommen, daß die Assimilation von der Pflanze bewirkt wird durch das Plasma in Verbindung mit dem Chlorophyll, und zwar sind hierfür beide Teile notwendig.

Man ist nun aber leicht geneigt, anzunehmen, daß Sippen, die das Chlorophyll in größerer Konzentration enthalten und dadurch dunkelgrüne Blätter haben, mehr CO_2 zerlegen, als Sippen mit hellgrünen Blättern, daß also die Assimilationstüchtigkeit eines Blattes parallel geht mit der Konzentration des grünen Farbstoffs. Man darf aber keineswegs von der Blattfärbung einer Pflanze allein Schlüsse ziehen auf ihre Assimilationstüchtigkeit, sondern es können auch die spezifischen Verschiedenheiten des Plasmas, das bei der CO_2-Zerlegung beteiligt ist, eine Rolle spielen. (Pfeffer, Pflanzenphysiologie I.) So glaubte M. G. Bonnier (1893) gezeigt zu haben, daß die sogenannten grünen Halbschmarotzer keine merkliche oder nur eine geringe Assimilationstätigkeit zeigen; dabei haben aber die *Euphrasia-*, *Melampyrum-* und *Rhinanthus*-Arten zum Teil ganz normalgrüne Blätter. Heinricher (1895—1901) wies jedoch in mehreren Abhandlungen die tatsächliche Assimilationstüchtigkeit des Chlorophyllapparates der grünen Halbschmarotzer nach. Er gab zu, daß diese Pflanzen ein großes Lichtbedürfnis haben, so daß sie zwischen hohem Gras nicht gedeihen können; aber nach längerem Verweilen im direkten Sonnenlicht konnte er mittels der Jodprobe die stattgehabte Stärkebildung in den Blättern nachweisen. Nun ergeben aber andere Pflanzenarten, deren Blätter dieselbe Farbennuance der grünen Halbschmarotzer zeigen, bei derselben Beleuchtung offenbar bedeutend größere Assimilationswerte. Hieraus geht hervor, daß Pflanzen, die wenig oder garnicht verwandt sind, in der Photosynthese der Chloroplasten bei demselben Chlorophyllgehalt große Differenzen aufweisen können, und daß spezifische Unterschiede in der Arbeitsleistung des Plasmas vorkommen.

Nun ist es aber eine andere Frage, wie sich die Kohlehydrat-

bildung bei den Sippen verhält, die sich in ihrem Bau und in der Beschaffenheit des Plasmas nicht oder nur wenig unterscheiden, die aber das Chlorophyll in verschiedener Konzentration enthalten. Es gibt viele Pflanzenarten mit Varietäten, die sich durch auffällig verschiedene Blattfärbung auszeichnen und dadurch einfarbig hell- bis dunkelgrün oder auch gescheckt erscheinen. Bei solchen Sippen ist von vornherein ein gleiches Verhalten des Plasmas eher zu erwarten. Die nicht erbliche Buntblättrigkeit ist in ihrem Wesen noch sehr wenig untersucht; die erbliche Buntblättrigkeit gehorcht mit geringen Ausnahmen (*Mirabilis Jalapa albomaculata* und *Pelargonium zonale*) den Mendelschen Gesetzen, wie die genaueren Untersuchungen von Correns (1908) und Baur (1910) ergaben. Ich habe nun alles Material, das mir erreichbar war, untersucht, und zwar am genauesten *Mirabilis Jalapa*, deren Erblichkeit eingehend studiert worden ist; für die anderen Objekte liegen teils noch keine Veröffentlichungen vor (*Tropaeolum, Atriplex*), teils sind sie überhaupt noch nicht in dieser Beziehung untersucht worden. Vermutlich handelt es sich aber stets mit Ausnahme von *Aesculus,* um erbliche Formen.

In dieser Arbeit sollte nun, wie schon gesagt, versucht werden, an dem Beispiele der *Mirabilis Jalapa chlorina* zu zeigen, wie die erblich-konstante, hellgrüne Pflanze mit dem geringeren Chlorophyllgehalt auskommt. Es hätten dazu zunächst zahlreiche Frischgewichtsbestimmungen der ganzen Pflanzen ausgeführt werden müssen. Da das aber bei den unterirdischen Teilen doch nicht exakt zu erreichen war, habe ich mich auf die oberirdischen Teile am Ende des ersten Lebensjahres beschränkt. Dann wurden aus mehreren individuellen Assimilationswerten der normalgrünen und der hellgrünen Sippe die Mittelwerte genommen und diese Zahlen zum Chlorophyllgehalt in Beziehung gebracht. Hierauf mußte ein aus Atmungsversuchen ev. sich ergebender Unterschied in der Atmungsintensität und damit im Stoffverbrauch bei der Atmung in Rechnung gezogen und nach anderen Faktoren, die für die Bilanz in Betracht kommen können, gesucht werden. Außerdem sind auch mit den Varietäten anderer Arten Assimilations- und Atmungsversuche gemacht worden, um für andere Objekte die Wahrscheinlichkeit einer ähnlichen Bilanz nachzuweisen.

Bis jetzt sind noch nicht sehr viel Versuche über die Assimilationstätigkeit von Blättern nahe verwandter Pflanzen mit verschiedenem Chlorophyllgehalt gemacht worden. Es untersuchte Ed. Griffon (1899) die Assimilationstätigkeit vieler solcher Blätter, und er fand dabei, daß im allgemeinen die Blätter mit stärkerem Chlorophyllgehalt einen größeren Assimilationswert besitzen, als die hellgrünen Blätter. Er untersuchte die Blätter mit deutlich verschiedenem Chlorophyll-

gehalt in 5—10% CO_2 in abgeschlossenen Glaszylindern und analysierte die Luft in diesen Gefäßen vor und nach dem Versuch. Daß die verglichenen Blätter gleiche Größe hatten, und wie stark die Chlorophyllkonzentration in den Varietäten verschieden war, das hat Griffon nur abgeschätzt und nicht genau ermittelt. Er fand denn auch bei vielen Pflanzen (Gräsern, *Lactuca, Fuchsia*) eine schwächere Assimilation der hellgrünen Varietäten. Griffon gibt immer den Quotienten der beiden Zahlen, die gleich der Menge des auf dieselbe Blattfläche zu gleicher Zeit entwickelten Sauerstoffs sind, an, und zwar setzt er den Assimilationswert der hellgrünen Varietät in den Zähler, den der dunkelgrünen in den Nenner. Er fand dann bei den meisten Pflanzen für den Quotienten Werte, die zwischen 0,60 und 0,90 lagen. Seine Versuche ergaben aber auch bei Blättern von verschiedenen Varietäten derselben Art mit gleichem Chlorophyllgehalt ungleiche Zahlen (*Fuchsia*) und sogar bei Varietäten von *Ligustrum* einen Wert des Quotienten von 1,15. Griffon erklärt sich dieses Verhalten aus der anatomischen Struktur der Blätter. Er findet bei dem hellgrünen *Liguster* eine Blattdicke von 324 μ, bei dem dunkelgrünen eine solche von 243 μ, und da ist es ihm leicht verständlich, daß ein dickeres Blatt bei der gleichen Oberfläche dieselbe oder eine noch größere Chlorophyllmenge enthalten und doch heller erscheinen kann als ein dünneres. Die rotblättrigen Varietäten zeigten in den Versuchen Griffons einen mehr (*Prunus, Fagus*) oder weniger (*Arum, Pelargonium*) großen Unterschied zugunsten der normalgrünen Stammpflanzen in der Assimilation. Dagegen fand Jumelle, der nach derselben Methode arbeitete wie Griffon, aber die Assimilationswerte auf dasselbe Frischgewicht umrechnete, wesentlich größere Unterschiede zugunsten der normalgrünen Formen.

Lubimenko beschäftigte sich ebenfalls mit der Abhängigkeit der Assimilation von der Konzentration des Chlorophylls. Er untersuchte die Triebe, bei denen ein Altersunterschied eine ungleiche Chlorophyllfärbung bewirkt hatte. Seine Arbeit ergab, daß die chlorophyllarmen jungen Coniferentriebe in der Natur die stärksten Lichtintensitäten mit Vorteil benutzen, daß aber die vorjährigen erwachsenen Triebe bei derselben mittleren Beleuchtung zwar stärker assimilieren als die jungen Sprosse, aber auf diese die intensivste Sonnenbestrahlung sogar ungünstig wirkt. Unser Autor ist der Ansicht, daß in diesem Falle wahrscheinlich die Temperatur im Innern der Pflanze zu hoch wird, und dadurch die Assimilationstätigkeit abnimmt.

Untersuchungs-Methoden.

Die Assimilationsversuche wurden nach der sogenannten Blatthälften-Methode ausgeführt, die Stahl (1883) und Sachs (1884) zuerst anwandten, und die auch von Arno Müller benutzt wurde. Diese Methode ist bekanntlich die folgende: Die Blätter, deren Assimilationstätigkeit bestimmt werden soll, werden einige Zeit verdunkelt, so daß die gespeicherten Kohlehydrate abwandern können. Dann werden sie durch einen Schnitt längs der Mittelrippe halbiert; es bleiben die einen Hälften der Blätter mit der Mittelrippe an der Pflanze sitzen, die anderen Hälften werden dadurch von der Pflanze abgetrennt. Diese Hälften werden auf lichtempfindlichem Papier kopiert und im Wärmeschrank bei 105° C. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die noch an der Pflanze befindlichen Hälften werden dem Licht ausgesetzt, so daß sie assimilieren können, abends durch einen Schnitt längs der Mittelrippe symmetrisch zum früheren von der Versuchspflanze abgetrennt und gerade so behandelt, wie die zuerst abgeschnittenen Hälften. Das Kopierpapier von bekanntem Flächeninhalt wird gewogen, die kopierten Blatthälften werden mit der Schere exakt ausgeschnitten und diese Ausschnitte ebenfalls gewogen. So läßt sich die Oberfläche der kopierten Blatthälften aus der Proportion: Gewicht des Kopierpapiers : Gewicht der Ausschnitte = Größe des Kopierpapiers : Größe der Ausschnitte und daraus die Größe der kopierten Blatthälften ermitteln. Nun werden auch die im Wärmeschrank bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Blatthälften gewogen, und da ihre Größe bekannt ist, so kann man das Gewicht eines m^2 Blatthälften berechnen. Der Unterschied im Gewicht zwischen den am Morgen vor Beginn des Versuches abgeschnittenen Blatthälften und entsprechend großen nachmittags nach der Belichtung abgeschnittenen gibt die Menge der im Blatt gebildeten und in ihm verbliebenen Assimilate an.

Diese Versuchsordnung ist einfach und auch das einige Übung erfordernde Ausschneiden der Kopien erlernt sich bald. Doch haften dieser Methode mehrere Fehlerquellen an. Zunächst ist der gefundene Assimilationswert ein Minimum; denn infolge der inzwischen vor sich gehenden teilweisen Abwanderung der Assimilate aus dem Blatt, muß die wirklich gebildete Menge Kohlehydrate wesentlich größer sein, um so größer, je länger die Exposition dauerte. Darf man annehmen, daß diese Ableitung ihrer Größe nach der CO_2-Assimilation parallel geht, so kann man sie, wie ich es getan habe, bei vergleichenden Versuchen außer acht lassen. Nachträglich sind mir freilich Zweifel an der Berechtigung dieser Annahme aufgestiegen, als ich keine Versuche mehr anstellen konnte. Es ist gut möglich, daß bei der blaßgrünen Sippe der Zeitpunkt des Beginnes der Ableitung anders liegt, als bei der *typica*. Es hängt das eben von den zurzeit wohl kaum

präzisierten Faktoren ab, die den Konzentrationsgrad der Assimilate, mit dem die Ableitung beginnt, bestimmen. Eine weitere Fehlerquelle liegt in dem wechselnden Wassergehalt der Luft; dieser Faktor macht sich bemerkbar bei dem Wiegen der Kopierblätter und der ausgeschnittenen Kopien, da der Wassergehalt des Papieres sich mit dem der Luft ändert. Die zu einem Versuch gehörenden Bogen wurden daher zu gleicher Zeit nacheinander gewogen, so daß der Grad der Lufttrockenheit für die zum selben Versuch gehörenden Kopierbogen derselbe war; diese Vorsicht wurde auch beim Wägen der Ausschnitte angewandt.

Auch in der Technik des Ausschneidens der Kopien liegt eine Fehlerquelle begründet. Zur Prüfung der Genauigkeit dieser Größenbestimmungen wurden zwei Versuche gemacht, und zwar wurde bei einem Versuch ein Objekt mit glattem Blattrand (*Fagus*) und ein anderes mit gezacktem Rand (*Corylus*), bei dem das Ausschneiden immerhin schwieriger war, benutzt. Jedesmal wurden je 5 Blätter zweimal auf verschiedenem Papier kopiert, und theoretisch hätten sich jedesmal dieselben Blattgrößen ergeben müssen; die Versuche ergaben nun die folgenden Werte:

1. Fagus silvatica.

Kopiert werden	Ganzer Kopierbogen wiegt	Er ist groß	Die Auschnitte wiegen	Sie sind groß
5 Blätter	6,3451 g	$13 \cdot 18$ cm²	3,0382 g	112,24 cm²
Dieselben Blätter . . .	6,3870 g	$13 \cdot 18$ cm²	3,0480 g	111,87 cm²

2. Corylus Avellana.

Kopiert werden	Ganzer Kopierbogen wiegt	Er ist groß	Die Ausschnitte wiegen	Sie sind groß
5 Blätter	6,0210 g	$12{,}13 \cdot 17{,}3$	3,0466 g	106,17 cm²
Dieselben Blätter . . .	5,9322 g	$12{,}11 \cdot 17{,}0$	3,0620 g	106,27 cm²
5 andere Blätter . . .	6,0379 g	$12{,}0 \cdot 17{,}0$	2,6863 g	90,76 cm²
Diese nochmal	6,2428 g	$12{,}2 \cdot 17{,}3$	2,6849 g	90,79 cm²

Es ergibt die Bestimmung bei *Fagus* einen Fehler von 0,33%, die Bestimmung bei *Corylus* im ersten Falle einen Fehler von 0,08, im zweiten einen solchen von 0,04%, was für die Versuche genügend klein ist.

Endlich konnte ein nicht geringer Fehler durch den ungleichen Bau der untersuchten Blätter hervorgerufen werden; daher wurden möglichst symmetrische Blätter, die die Spreitenhälften gleichmäßig ausgebildet hatten, benutzt. Da nach Nordhausen (1907) die heliotropische Empfindlichkeit der Blatthälften verschieden sein kann, so

suchte ich an Pflanzen mit großen Blättern (*Helianthus, Platanus*) festzustellen, ob auch die Assimilationsleistung beider Blattseiten sich so verhält. Durch wechselseitiges Ausstanzen aus beiden Blatthälften erhielt ich unter Vermeidung der Rippen am Morgen 15 Plättchen von 12 mm Durchmesser; nach entsprechendem Ausstanzen am Abend fand ich dann, daß die Zunahme an Trockengewicht der entsprechenden Plättchen beider Blatthälften dieselbe war. Daraus ergibt sich die assimilatorische Gleichwertigkeit der Spreitenhälften.

Eine äußerst genaue Methode zur Bestimmung der Assimilationstätigkeit von Pflanzenteilen hat Kreussler angegeben. Er untersuchte den Unterschied an CO_2 in einem Gasgemisch, dessen CO_2-Gehalt vor und nach dem Passieren einer Glasglocke, die die Versuchspflanzen enthielt, bekannt war. Da er noch die durch die Atmung sich bildende CO_2-Menge berücksichtigte, konnte er die genaue CO_2-Zerlegung durch die Pflanzen angeben. Diese Methode wurde aber von mir nicht angewandt, da dazu eine große Apparatur erforderlich gewesen wäre; es handelte sich ja um vergleichende Versuche, die nicht nacheinander, sondern nebeneinander ausgeführt werden mußten.

Bei meinen Versuchen benutzte ich für das Verdunkeln der Blätter an der Pflanze ca. 40 cm lange und 20 cm breite Säcke aus schwarzem, leichtem, aber dichtem Satin, die dann, wenn sie über den Zweig mit den zu benützenden Blättern gezogen waren, unten zugebunden wurden. Nach einer meist eintägigen Verdunkelung — von einem Morgen zum andern — zeigte die Jodprobe makroskopisch die beendete Auswanderung aller Stärke aus den Blättern an. Bei vielen Versuchen war es aber vorteilhafter, mit Blättern von abgeschnittenen Trieben zu arbeiten, weil dann durch geeignete Stellung der Triebe erreicht werden konnte, daß die Sonne unter demselben Winkel auf die Blätter auffiel. In solchen Fällen wurden die benutzten Triebe unter Wasser mit einem scharfen Rasiermesser abgeschnitten, in Wasser gesetzt und 2 Tage lang in die Dunkelkammer gestellt. Nach dieser Zeit waren die Blätter noch voll turgeszent und ich konnte mit der Jodprobe keine Stärke mehr nachweisen.

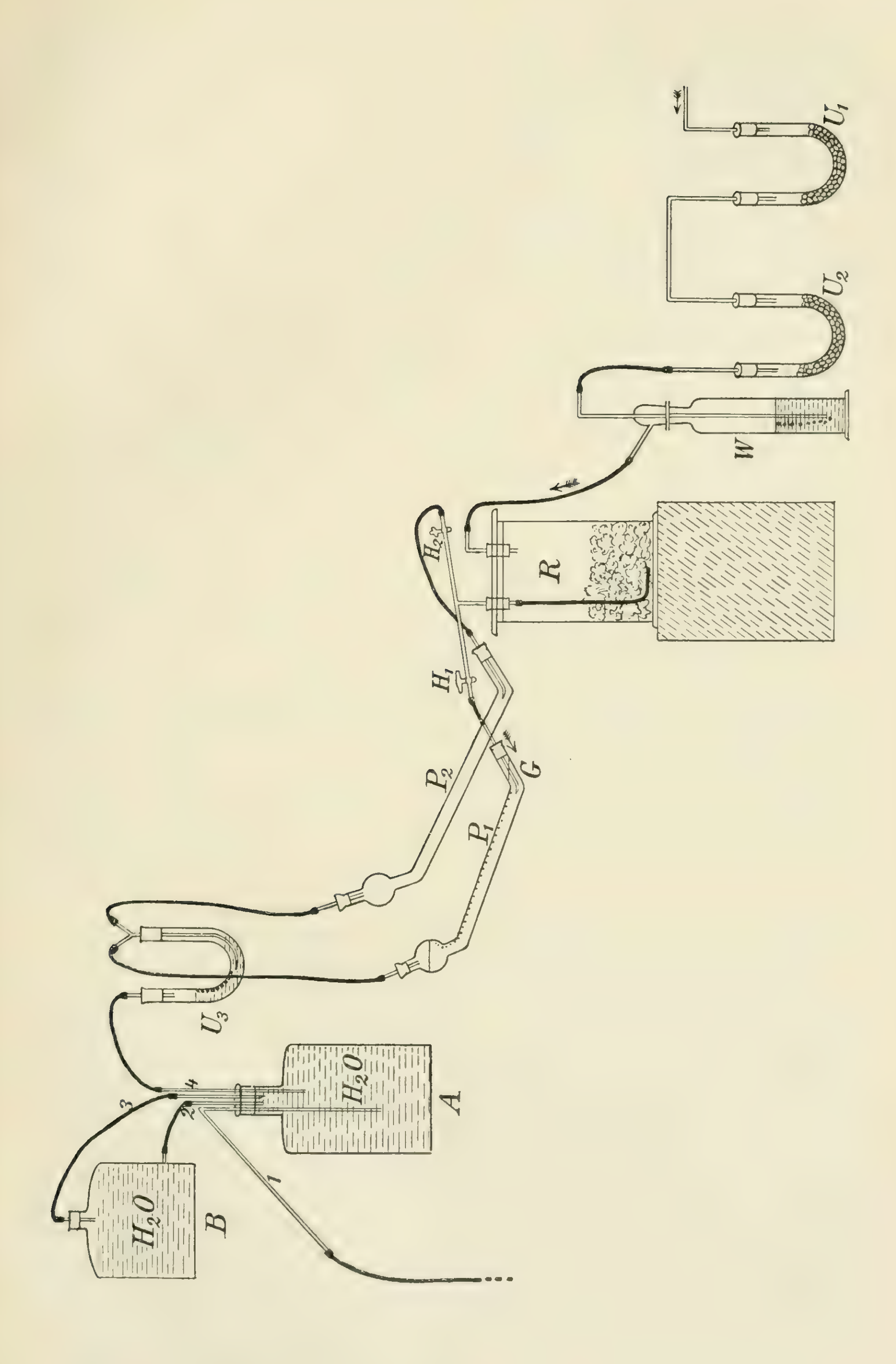
Als Kopierpapier wurde im Anfang Celloidinpapier benutzt. Da dies auf die Dauer aber zu teuer wurde, so nahm ich später das bekannte Blaueisenpapier, und zwar machte ich mir dasselbe meist jeden Morgen selbst fertig. Das Rezept dazu, das ich Herrn Dr. Lenz verdanke, war folgendes: Es wurden 1 Teil zitronensaures Eisenoxyd-Ammoniak in 4 Teilen Wasser und 1 Teil rotes Blutlaugensalz in 10 Teilen Wasser gelöst und davon gleiche Teile zusammengegossen. Darauf wurde dies Gemisch mit einem Wattebausch auf postkartendickes Kartonpapier aufgestrichen und das lichtempfindliche Papier, das schnell trocken wurde, war fertig. Es hatte den Vorteil großer Billigkeit, da es nur $^1/_{10}$ so teuer wie Celloidinpapier war, und das verwendete Papier hatte, was vor allem wichtig war, eine gleichmäßige Dicke und die Blatthälften gaben scharfe Kopien, die ein gutes Ausschneiden ermöglichten.

Auf diesem Blaupapier wurden die Blatthälften kopiert; dann wurde das Papier gewässert und meist in der Sonne getrocknet. Nach dem Trocknen wurden die Bogen einzeln in die Länge und Breite gemessen und dann nach einigen Stunden, wenn sie die Feuchtigkeit der Atmosphäre angenommen hatten, die zum selben Versuch gehörenden Bogen gewogen.

Die Wägegläschen, die bestimmt waren, die zu trocknenden Blätter aufzunehmen, wurden während der Versuche mehrere Male gewogen und ihr Gewicht während der ganzen Zeit konstant gefunden.

Alle Atmungsversuche wurden mit dem auch von Pfeffer (1885) benutzten Pettenkoferschen Atmungsapparat ausgeführt. Bei diesem Apparat wird CO_2-freie Luft über die Pflanzenteile, deren Atmungsintensität bestimmt werden soll, geleitet. In dem Rezipienten, der die Versuchspflanzen enthält, nimmt die CO_2-freie Luft die von den Pflanzenteilen ausgeatmete CO_2 auf; dann passiert sie eine Barytlauge von bekannter Alkalität und da wird die CO_2 unter gleichzeitiger Bildung von $BaCO_3$ vollständig gebunden. Dabei ändert sich die Alkalität der Barytlauge und aus dieser Änderung läßt sich die jedesmal gebundene Kohlensäuremenge berechnen.

Der von mir benutzte Atmungsapparat war folgendermaßen aufgebaut (siehe Figur). Die atmosphärische Luft wird durch die beiden U-Rohre U_1 und U_2, die mit durch KOH getränkte Bimsteinstücke gefüllt sind, geleitet. Dabei wird von der KOH alle CO_2 absorbiert; dies zeigt sich daran, daß die $Ba(OH)_2$ in der hinter die U-Röhren geschalteten Waschflasche W klar bleibt. Die von der CO_2 befreite Luft kommt jetzt in den Rezipienten R, der die Pflanzenteile, deren Atmungsgröße bestimmt werden soll, enthält. Während des Versuches ist dieser Rezipient durch schwarzes Tuch verdunkelt, so daß sich alle durch die Atmung gebildete CO_2 ausscheidet. Diese CO_2 wird durch einen bis zum Boden des Rezipienten reichenden Schlauch (wegen der Schwere der CO_2) fortgesaugt, und gelangt jetzt in ein T-Rohr mit zwei eingeschliffenen Glashähnen H_1 und H_2. Es ist in der skizzierten Versuchsanordnung der Hahn H_1 offen und der Hahn H_2 geschlossen. Die CO_2-reiche Luft geht also durch den Hahn H_1 und passiert, nach dem Durchtritt des in eine Kapillare ausgezogenen Glasrohres G, die mit 300 cm^3 vorher titrierter $Ba(OH)_2$ gefüllte Pettenkoferröhre in feinen Blasen. Die CO_2 wird dabei von der $Ba(OH)_2$ vollständig gebunden und fällt als weißes $Ba CO_3$ nieder. Die vollständige Absorption der CO_2 zeigt das Klarbleiben der $Ba(OH)_2$ in der U-Röhre U_3 an. Die Bewegung der Luft im ganzen Apparat geschieht mittels des Aspirators A, dessen Wasser durch einen Saugheber abläuft; dadurch wird die Luft durch den Apparat gesaugt. Durch beständigen Wasserzufluß aus der Flasche B wird dafür gesorgt, daß das Wasser in A immer dieselbe Höhe hat und dadurch immer dieselbe Wassermenge aus dem Aspirator ausläuft. Dies Zufließen aus der Flasche B geschieht automatisch in folgender Weise: Wenn durch das Abflußrohr 1 eine kleine Menge Wasser ausgelaufen ist, so sinkt der Flüssigkeitsspiegel



H_2O
B
H_2O
A
1
2
3
4
U_3
P_1
P_2
G
H_1
H_2
R
W
U_2
U_1

in dem Hals der Flasche A, und zwar so weit, daß er bis an das untere Ende des schräg abgeschnittenen Glasrohres 3 kommt. Dann tritt durch dieses Glasrohr eine Verbindung ein zwischen der Luft im Hals der Flasche A und dem Wasser in der Flasche B. Die Folge ist ein Luftzuströmen durch das Glasrohr 3 und ein Ausfließen des Wassers aus der Flasche B durch das Rohr 2. Das Ausfließen in die Flasche A dauert aber nur so lange, bis das Wasser über das Ende des Glasrohres 3 gestiegen ist; dann hört die Verbindung mit der Luft auf und der Zufluß von B ist beendet. Sobald aber wieder soviel Wasser ausgelaufen ist, daß das untere Ende des Glasrohres 3 frei wird, beginnt der Luftaufstieg zur Flasche B und damit der erneute Wasserzufluß. Auf diese Weise läuft die Flasche B allmählich leer. Beim erneuten Auffüllen ist zu beachten, daß dann, wenn der Korken im Hals der Flasche B geöffnet wird, eine Verbindung geschaffen wird mit der Außenluft, und da die Luft im Apparat verdünnt ist, ein Zurücksteigen der $Ba(OH)_2$ aus dem Rohr U_3 und aus der Pettenkoferröhre in den Rezipienten eintritt. Man hat daher ein Zwischenstück von Gummischlauch in die Glasröhren 2 und 3 einzuschalten, das beim Wasserauffüllen der Flasche B zugedrosselt wird.

Häufige Proben ergaben, daß dann, wenn die Zutrittsöffnung der Luft vor der Röhre U_1 zugehalten wurde, alsbald ein Aufhören des Blasenstromes in der Pettenkofer Röhre eintrat. Damit war ein Beweis für die Dichtigkeit der Verbindungsstücke gegeben.

Zur Erzielung konstanter Temperatur wurde der Rezipient in ein Gefäß mit Wasser gestellt, dessen Temperaturschwankungen während jedes Versuches keinen Grad Celsius betrugen.

Die $Ba(OH)_2$ wurde hergestellt durch Auflösen von BaO in destilliertem Wasser. Es wurden ungefähr 21 g BaO und 3 g $BaCl_2$, in einem Mörser fein zerrieben und in einem Liter heißen Wassers gelöst. Auf diese Weise wurden 5 l $Ba(OH)_2$ hergestellt und diese in einer großen Flasche aufbewahrt. Für den jedesmaligen Gebrauch konnte die notwendige Menge $Ba(OH)_2$ aus der Flasche durch einen Saugheber abgefüllt werden.

Zum Titrieren der $Ba(OH)_2$ wurde $^1/_{10}$ normale Oxalsäure benutzt, die durch Auflösen von 6,285 g reinster kristallisierter Säure im Liter destillierten Wassers erhalten wurde. Mit dieser genau $^1/_{10}$ normalen Lösung wurde die $Ba(OH)_2$ in der großen Flasche wiederholt titriert und für den Titer derselben Lösung immer gleiche Werte gefunden. Aus diesem Titer der $Ba(OH)_2$ ließ sich deren Normalität berechnen und daraus dann auch die Menge des darin enthaltenen Baryums. Mit der $^1/_{10}$ normalen Oxalsäure wurde nach dem Versuch auch die $Ba(OH)_2$ in der Pettenkoferröhre titriert und ebenfalls aus dem Titer deren Normalität und ihr Baryumgehalt berechnet. Die Differenz der Baryummengen der ungebrauchten und der gebrauchten Lösungen rührte her von der Bindung des Baryums an die CO_2; daraus ist die gebundene CO_2 zu berechnen.

Zu einem Beispiele seien 50 cm³ 1/10 normaler Oxalsäure mit einigen Tropfen Phenolphtaleïns in einem Becherglase versetzt; dazu läuft aus einer Bürette eine Menge $Ba(OH)_2$ bis zur vollständigen Neutralisation der Oxalsäure. Es seien hierzu 45 cm³ $Ba(OH)_2$ notwendig; dann ist die Normalität der $Ba(OH)_2$ $\frac{50}{10 \cdot 45} = 1/9$. In 1/9 normaler $Ba(OH)_2$ sind aber $\frac{68,689}{9} = 7,6322$ g Baryum enthalten. Es seien nun zur Neutralisation weiterer 50 cm³ Oxalsäure 46 cm³ der $Ba(OH)_2$ nötig, die nach dem Versuch dem Pettenkoferrohr entnommen wurden; dann hat diese $Ba(OH)_2$ die Normalität $\frac{50}{10 \cdot 46} = \frac{1}{9,2}$. In $\frac{1}{9,2}$ normaler $Ba(OH)_2$ sind aber $\frac{68,689}{9,2} = 7,4652$ g Baryum enthalten. Die Differenz von $7,6322 - 7,4652 = 0,1670$ g ist die Baryummenge, die an die CO_2 gebunden ist nach der Formel

$$Ba(OH)_2 + CO_2 = BaCO_3 + H_2O.$$

Es wird also auf ein Verbindungsgewicht Baryum ein Molekül CO_2 verbraucht. Da nun in unserm Falle 0,1670 g Baryum verbraucht sind, so folgt, daß daran $\frac{44 \cdot 0,1670}{137,4} = 53,4$ mg CO_2 gebunden sind.

Außer den Assimilations- und Atmungsversuchen wurden von den meisten benutzten Pflanzen noch Chlorophyllbestimmungen gemacht. Es wurden aus den unter gleichen Bedingungen gewachsenen Blättern mit einem Korkbohrer gleich viele und gleich große runde Plättchen ausgestanzt und das Gewicht der Plättchen von jeder Varietät bestimmt; die Plättchen hatten einen Durchmesser von 11,5 mm. Die zusammengehörenden Scheibchen wurden mit 50 cm³ heißem 95% Alkohol extrahiert und der Farbenunterschied der Chlorophyllextrakte mit dem Kolorimeter von Dubosq bestimmt. Die gefundenen Werte konnten leicht auf den Wert 100 für die normalgrüne Stammform umgerechnet werden.

Von manchen Pflanzen sind auch Frischgewichts, Trockengewichts und Aschenbestimmungen ausgeführt worden. Zu diesem Zwecke wurde die Pflanze dicht über der Erde abgeschnitten, von Sand usw. befreit und gewogen. Darauf wurde sie in einem Trockenschrank bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, nachdem sie zerkleinert war, und wiederum gewogen. Von der Trockensubstanz wurde eine größere Menge, meist die ganze Pflanze, möglichst fein zerkleinert, in einen vorher gewogenen Nickeltiegel gefüllt und das Ganze gewogen. Durch anfangs gelindes, späterhin kräftiges Erhitzen mit der Bunsenflamme veraschte dann das Ganze und nahm eine gleichmäßig graue Färbung an. Die Wägung des Nickeltiegels mit der Asche und nachfolgende Wägung des Nickeltiegels allein, ergab das Gewicht der Asche.

Von der Asche wurde eine abgewogene Menge mit Wasser an-

gefeuchtet, mit Königswasser erhitzt, alles in eine Porzellanschale gespült und zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit verd. HCl aufgenommen, die Lösung auf ein bestimmtes Volumen verdünnt und in je einem Drittel der Lösung 1. SO_4, 2. Fe_2 O_3, CaO und MgO und 3. PO_4 bestimmt. Ungelöst blieben hierbei im Königswasser die unverbrannte Kohle, amorphe SiO_2 und Sand; die ursprüngliche „Rohasche" wird nach Abzug dieser unlöslichen Stoffe zur Reinasche.

Die benutzten Pflanzen waren teils Bäume, teils Sträucher, teils Kräuter. Die meisten Bäume und Sträucher waren bezogen von der Baumschule Herm. A. Hesse in Weener a. d. Ems und im Frühjahr 1911 auf einem großen Beet im botanischen Garten der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W. gemeinschaftlich angepflanzt, so zwar, daß die zu einer Art gehörenden Varietäten unter möglichst gleichen Beleuchtungs- und Wachstumsbedingungen standen. Sie sind im folgenden nach dem Hesseschen Katalog 1909/10 benannt. Außerdem wurde noch ein *Aesculus*, der im hiesigen botanischen Garten stand und verschiedene kürzere abnormale Zweige mit fast rein weißen Blättern getrieben hatte, zu Atmungsversuchen gebraucht. Die Kräuter endlich waren ebenfalls meist auf einem bebesonderen Versuchsfeld angepflanzt und standen unter gleich günstigen Beleuchtungsverhältnissen.

Systematisches Verzeichnis der Versuchspflanzen.

Salicales.

I. Populus canadensis,
Populus canadensis aurea.

Fagales.

Betulaceen.

II. Corylus Avellana,
Corylus Avellana atropurpurea.

Fagaceen.

III. Fagus silvatica,
Fagus silvatica argenteo-variegata,
Fagus silv. Zlatia,
Fagus silv. purpurea macrophylla.

Urticales.

Ulmaceen.

IV. Ulmus montana,
Ulmus montana aurea,
Ulmus montana atropurpurea.

Centrospermae.

Chenopodiaceen.

V. Atriplex hortensis,
Atriplex hortensis chlorina,
Atriplex hortensis atropurpurea.

Nyctaginaceen.

VI. Mirabilis Jalapa,
Mirabilis Jalapa chlorina,
Mirabilis Jalapa variegata.

Ranales.

Magnoliaceen.

VII. Liriodendron tulipifera.
Liriodendron tulip. aurea-marginata.

Geraniales.

Tropaeolaceen.

VIII. Tropaeolum majus,
Tropaeolum majus chlorinum.

Rutaceen.

IX. Ptelea trifoliata,
Ptelea trifoliata aurea.

Euphorbiaceen.

X. Ricinus rot,
Ricinus grün.

Sapindales.

Aceraceen.

XI. Acer dasycarpum,
Acer dasycarpum lutescens;

XII. Acer Pseudoplatanus,
Acer Pseud. luteo-virescens,
Acer Pseud. lutescens,
Acer Pseud. metallicum,
Acer Pseud. euchlorum,
Acer Pseud. purpureum,
Acer Pseud. atropurpureum,
Acer Pseud. cupreum.

Hippocastanaceen.

XIII. Aesculus Hippocastanum.

Tubiflores.

Bignoniaceen.

XIV. Catalpa bignonioides aurea,
Catalpa bign. Koehnei,
Catalpa Kaempferi,
Catalpa Kaempferi atropurpurea.

Eigene Versuche.

I. Populus canadensis und Populus canadensis aurea.

Zu den Versuchen wurden Blätter von zwei ca. $2^1/_2$ m hohen Bäumen, die im Versuchsfeld nebeneinander standen, benutzt. Der *aurea* Baum hatte gelbgrüne Blätter, die zur Stammform in deutlichem Kontrast standen.

Für die Chlorophyllbestimmung wurden aus einigen unter gleichen Bedingungen gewachsenen Blättern der beiden Bäume zusammen je 25 gleiche Plättchen ausgestanzt; die Bestimmung ergab:

Varietät	Frischgewicht der Plättchen	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt der 25 Plättchen
typica . .	0,2268 g	100
aurea . .	0,2119 g	45,2

Es enthält also die gelbgrün gefärbte Varietät erheblich weniger Chlorophyll als die Stammform. Da beim Vergleich der Chlorophyllextrakte die Farbennuance dieselbe war, so wird die gelbgrüne Färbung der *aurea*-Pflanze hervorgerufen durch eine gleichmäßige Abnahme aller Farbstoffe und nicht etwa durch das Überwiegen der Carotine und Xanthophylle. Nach Correns Terminologie (1908) läge hier die Varietät *chlorina* vor. Die Erblichkeit der blaßgelben Blattfärbung ist noch nicht untersucht und im folgenden soll die Bezeichnung *aurea* beibehalten werden.

Der erste Assimilations-Versuch fand statt am 4. August 1911. Es waren von dem normal grünen Baum drei unter gleichen Bedingungen gewachsene Zweige, die im folgenden mit Trieb I, Trieb II usw. bezeichnet sind, abgeschnitten; dasselbe geschah mit zwei

1

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Durchschnittsdifferenz v. typ. = 100
Versuch I 8 h. a — 4 h. p.	typica				
	Trieb I	36,6823 g	42,3820 g	5,6997 g	100 g
	Trieb II	28,6292 g	34,1485 g	5,5193 g	
	Trieb III	28,5156 g	34,3631 g	5,8475 g	
	aurea				
	Trieb I	43,3080 g	45,1082 g	1,8002 g	39,36 g
	Trieb II	30,5357 g	33,2130 g	2,6773 g	
Versuch II 9^{30} h. a — 3^{30} h. p.	typica				
	Trieb I	48,2244 g	50,7260 g	2,5016 g	100 g
	Trieb II	48,7845 g	51,6425 g	2,8580 g	
	aurea	45,0530 g	46,2058 g	1,1528 g	43,02 g

ähnlichen Trieben vom *aurea*-Baum. Der zweite Assimilationsversuch wurde am 11. September 1911 unter gleichen Bedingungen ausgeführt. Bei beiden Versuchen war schönstes Sonnenwetter.

Es ist aus beiden Versuchen ein sehr beträchtlicher Unterschied in der Assimilationstätigkeit der beiden Varietäten zu erkennen, und zwar ist diese Differenz fast genau so groß, wie der Unterschied im Chlorophyllgehalt in der Flächeneinheit. Hier besteht also annähernde Proportionalität zwischen Chlorophyllgehalt und Photosynthese.

Mit Blättern von beiden Bäumen wurden auch Atmungsversuche ausgeführt. Dabei ergaben sich pro Stunde und 100 g Frischgewicht die Werte

2

typica		aurea		Ausgeatmete CO_2-Menge der typica = 100
Versuchszeit	CO_2-Menge	Versuchszeit	CO_2-Menge	
8^{20}—12^{02}	38,5 mg	8^{42}—12^{50}	34,8 mg	aurea = 89,67
12^{02}—4^{02}	38,0 mg	12^{50}—4^{17}	33,8 mg	
Durchschn.	38,25 mg		34,3 mg	

Diese Versuche zeigen die geringere Atmungsgröße der Blätter des *aurea*-Baumes. Der Unterschied ist aber bei weitem nicht so bedeutend wie der Unterschied in ihrer Assimilationstätigkeit.

II. Corylus Avellana und Corylus Avellana atropurpurea.

Es handelt sich hier um zwei ca. 1 m hohe Sträucher, die auf demselben Versuchsfeld nebeneinander standen; der eine Strauch hatte normalgrüne, der andere dunkelrote Blätter. Chlorophyllbestimmungen wurden nicht ausgeführt.

3

	Varietät	1 m² wiegt		Differenz	Durchschnitts-differenz von typ. = 100
		morgens	abends		
I. Versuch	typica	36,7658 g	39,5510 g	2,7852 g	100 g
	atropurp.	38,7218 g	39,4320 g	0,7102 g	25,50 g
II. Versuch 8 h. a — 4 h. p.	typica	42,3918 g	46,2700 g	3,8782 g	100 g
	atropurp.	40,8100 g	42,3740 g	1,5640 g	40,33 g
III. Versuch 9 h. a. — 3^{30} h. p.	typica				
	Trieb I	47,9588 g	49,9966 g	2,0378 g	100 g
	Trieb II	49,1355 g	51,4755 g	2,3400 g	
	atropurp.				
	Trieb I	30,2871 g	31,2322 g	0,9451 g	44,75 g
	Trieb II	32,0700 g	33,0839 g	1,0139 g	

Der erste Assimilationsversuch fand statt am 26. und 27. Juni 1911 bei meist bedecktem Wetter, der zweite am 8. Juli und der letzte am 18. Juli 1911, beide bei schönstem Wetter. Benutzt wurden abgeschnittene Triebe.

Diese Versuche ergeben einen großen Unterschied in der Assimilation der beiden Varietäten. Besonders klein ist die Gewichtszunahme der Bluthasel gegenüber der Stammform beim I. Versuch; dieser Versuch fand statt bei bedecktem Himmel, und das wird vielleicht eine Erklärung für den relativ kleinen Assimilationswert der Bluthasel geben. Da das Anthocyan als eine Art Lichtschirm wirkt, so ist es natürlich, daß die Sonne erst mit einer bestimmten Helligkeit scheinen muß, um für die Assimilation wirksam sein zu können. Bezeichnet man die von dem Anthocyan absorbierte Lichtmenge mit α und die auf die Pflanzen fallende volle Lichtmenge mit A, so kommt den Chromatophoren in der normalgrünen Hasel die Lichtmenge A zu, denen in der Bluthasel aber nur die Lichtmenge $A - \alpha$. Ist nun A nicht viel von α verschieden, so wird man bei der Bluthasel nur eine äußerst geringe Assimilation wahrnehmen, die grüne Hasel wird dagegen schon wohl wahrnehmbare Assimilation zeigen. Die Atmungsversuche mit Blättern von denselben Bäumen ergaben pro Stunde und 100 g Frischgewicht die Werte:

4

Avellana		atropurpurea		Ausgeatmete CO_2 der Avellana = 100
Versuchszeit	CO_2-Menge	Versuchszeit	CO_2-Menge	
8^{19}—1^{00}	55,7 mg	8^{45}—12^{55}	47,28 mg	83,78
1^{00}—3^{58}	57,6 mg	12^{55}—4^{30}	47,64 mg	
Durchschn.	56,65 mg		47,46 mg	

Im Durchschnitt ist also die Atmungsintensität der Bluthasel um 16,2% geringer als die der normalgrünen Hasel.

III. Fagus silvatica, Fagus silvatica variegata, Fagus silvatica Zlatia und Fagus silvatica purpurea macrophylla.

Im Versuchsfeld standen nebeneinander die normalgrünen *Fagus silvatica*, dann *Fagus silvatica variegata* mit gelbumränderten, in der Mitte grünen Blättern, *Fagus silvatica Zlatia* mit hellgrünen Blättern und endlich *Fagus silvatica purpurea macrophylla* mit roten Blättern. Chlorophyllextrakte wurden aus diesen Blättern nicht gemacht.

Der erste Assimilations-Versuch fand statt am 26. und 27. Juni 1911 bei bedecktem Wetter, der zweite am 6. Juli 1911 bei schönstem Sonnenwetter. In beiden Fällen wurden abgeschnittene Zweige benutzt.

5

	Varietät	1 m² wiegt morgens	abends	Differenz	Differenz für typica = 100
I. Versuch	typica	45,9490 g	49,5155 g	3,5665 g	100 g
	variegata	40,9730 g	43,4090 g	2,4360 g	68,31 g
	Zlatia	49,3377 g	50,5512 g	1,2135 g	34,03 g
	atrop. klein	44,6600 g	47,5880 g	2,9280 g	82,10 g
II. Versuch 8^{30} h. a — 3^{30} h. p.	typica	49,5199 g	51,4921 g	1,9722 g	100 g
	variegata	48,7135 g	49,7948 g	1,0813 g	54,82 g
	Zlatia	59,8911 g	60,5669 g	0,6758 g	34,26 g
	atrop. groß	46,3106 g	47,5422 g	1,2316 g	62,43 g
	atrop. klein	46,6721 g	47,9400 g	1,2679 g	64,30 g

Es bedeutet hier „atrop. groß" Blätter einer erwachsenen Blutbuche im botanischen Garten und „atrop. klein" die Blätter der Blutbuche aus dem Versuchsfeld.

Der letzte Assimilationsversuch sollte die Kohlehydratbildung der Sonnen- und Schattenblätter der erwachsenen normalgrünen und der rotblättrigen Buche zeigen. Es wurden zu dem Zwecke mehrere gleichgewachsene Triebe von jeder Form abgeschnitten und nach den üblichen Vorbereitungen bei gleicher Beleuchtung exponiert. Der Versuch fand statt am 18. Juli 1911 bei schönstem, sonnigem Wetter und dauerte von 9 h. a. — 4^{30} h. p.; er ergab die folgenden Werte, wo z. B. *Fagus silvatica* Sonnenblatt Trieb I, Trieb II usw. Äste desselben Baumes bedeuten.

6

Varietät	1 m² wiegt morgens	abends	Differenz	Durchschnittsdifferenz von silv. = 100
Fagus silvatica				
Sonnenblatt Trieb I .	53,8839 g	56,7338 g	2,8499 g	100
Sonnenblatt Trieb II .	65,3900 g	68,7766 g	3,3866 g	
Schattenblatt Trieb I .	34,0285 g	35,8966 g	1,8681 g	66,70
Schattenblatt Trieb II .	29,7207 g	31,9450 g	2,2243 g	
Schattenblatt Trieb III .	36,6879 g	38,8355 g	2,1476 g	
atropurpurea				
Sonnenblatt Trieb I .	69,7400 g	71,4100 g	1,6700 g	53,66
Sonnenblatt Trieb II .	60,6014 g	62,2778 g	1,6764 g	
Schattenblatt Trieb I .	30,0720 g	31,5447 g	1,4727 g	46,25
Schattenblatt Trieb II .	29,4687 g	30,8850 g	1,4163 g	

Diese Assimilationsversuche mit *Fagus* ergeben einen konstant kleineren Wert für die Kohlehydratbildung der Varietäten gegenüber

der Stammform. Sehr kleine Werte ergibt die gelbblättrige Form *Zlatia*, größer sind die Zahlen bei der gelbrandigen *variegata* und recht schwankend bei der Blutbuche. Im letzten Versuch ergibt sich ein Unterschied in der Assimilationstätigkeit der Sonnen- und Schattenblätter derselben Form, auf den auch Géneau de Lamarlière (1892) aufmerksam machte. Ebenso hatte Arno Müller (1904) bei sonnigem Wetter einen bedeutenden Unterschied in der Assimilationstätigkeit von Sonnen- und Schattenblättern für dieselbe Blattfläche zugunsten der Sonnenblätter gefunden. Er erklärt dies Verhalten damit, daß die Schattenblätter wegen ihrer geringen Dicke schon bald das Maximum der Stärkeanhäufung erreicht haben; denn die Schattenblätter geben auch bei bedecktem Wetter einen ähnlichen Assimilationswert; die Sonnenblätter aber assimilieren bei geringer Lichtintensität viel weniger. Bei meinen Versuchen ist dieser Unterschied für die Blätter der grünen Buche recht bedeutend, weniger stark ist er aber bei denen der Blutbuche, was sich wohl daraus erklärt, daß die Schattenblätter der Blutbuche nur noch wenig Anthocyan enthalten und dadurch den Sonnenblättern desselben Baumes gegenüber im Vorteil sind.

Zum Atmungsversuch wurden bei der *typica* 23 Sonnenblätter von 13,75 g Frischgewicht, bei der Blutbuche 28 Sonnenblätter von 15,1 g Frischgewicht verwandt, und zwar von den Bäumen, von denen die Blätter des letzten Assimilationsversuches genommen waren. Der Versuch ergab für die Stunde und 100 g Frischgewicht die folgenden Werte.

7

silvatica			atropurpurea			Ausgeatmete CO_2 von typ. = 100
Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	
20,9° C.	9^{22}—12^{53}	63,42 mg	20,0° C	8^{51}—11^{53}	63,56 mg	97,36
	12^{53}—5^{30}	65,65 mg		11^{53}—3^{12}	63,12 mg	
				3^{12}—5^{01}	61,96 mg	

Der Versuch zeigt eine freilich nur etwas geringere Atmungstätigkeit der Blutbuche.

IV. Ulmus montana, Ulmus montana aurea und Ulmus montana atropurpurea.

Es standen die zu dieser Gruppe gehörenden Bäume auf dem Versuchsfeld nebeneinander. Von jeder Varietät war ein Baum von ca. 3 m Höhe angepflanzt. Der *aurea*-Baum hatte gelbgrüne Blätter; nach der Definition von Correns (1908) würde er aber als *chlorina* zu bezeichnen sein, weil der Chlorophyllextrakt kein auffälliges Über-

wiegen des gelben Chlorophyllbestandteils, sondern ein gleichmäßiges Abnehmen der grünen und gelben Chlorophyllkomponenten zeigte. Da aber über die Erblichkeit der gelbgrünen Blattfarbe nichts näheres bekannt ist, so ist auch hier die Bezeichnung *aurea* beibehalten. Der *atropurpurea*-Baum hatte dunkelrot gefärbte Blätter; zur Chlorophyllbestimmung wurden vor dem Extrahieren mit Alkohol mehrere Blätter der Blutulme kurze Zeit in heißes Wasser gebracht, um das Anthocyan zu entfernen. Dasselbe geschah mit einigen normalgrünen Blättern, um vergleichbare Resultate zu bekommen. Die Blätter wurden dann sorgfältig mit Fließpapier getrocknet und mit dem Korkbohrer ausgestanzt.

Varietät	Frischgewicht von 25 Plättchen	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt aus den 25 Plättchen
typica	0,3015 g	100
aurea	0,3101 g	27,7
atropurp.	0,2745 g	125,5

In der hellgrünen Varietät ist also nur wenig Chlorophyll und in der Blutulme sehr viel davon vorhanden.

Der erste Assimilationsversuch fand statt am 1. Juni 1911 bei sonnigem Wetter, der zweite am 22. Juni 1911 bei zeitweise bedecktem Himmel, der letztere endlich am 14. August 1911 wiederum bei schönstem Sonnenwetter.

S

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Durchschnittsdifferenz von typ. = 100
I. Versuch 9^{15} h. a. — 4^{30} h. p.	typica	35,9758 g	37,0904 g	1,1146 g	100
	atropurp.	41,0097 g	41,8770 g	0,8673 g	77,83
II. Versuch 7 h. a. — 4 h. p.	typica	53,4162 g	55,4437 g	2,0275 g	100
	aurea	51,3590 g	52,5312 g	1,1722 g	57,82
	atropurp.	46,1860 g	47,4089 g	1,2229 g	60,35
III. Versuch 6^{30} h. a.—12^{30} h. p.	typica				
	Trieb I	33,2877 g	38,2464 g	4,9587 g	100
	Trieb II	33,0315 g	38,2010 g	5,1695 g	
	aurea				
	Trieb I	29,0313 g	30,7250 g	1,6937 g	32,45
	Trieb II	33,0415 g	34,6348 g	1,5933 g	
	atropurp.	51,1337 g	54,6900 g	3,5563 g	70,22

Alle diese Versuche zeigen die stärkere Assimilation der normalgrünen Ulme. Bei der *aurea*-Sippe ist das nicht weiter auffällig; ihre Leistung ist, auf gleiche Flächen berechnet, deutlich größer als ihr Chlorophyllgehalt erwarten läßt. Bei der Blutulme, die viel mehr

Chlorophyll in gleich großen Blattflächen und vor allem in gleichen Gewichten Blattsubstanz führt, ist der Assimilationswert aber kleiner als bei der normalgrünen Stammpflanze. Beim zweiten Versuch, der bei zeitweise bedecktem Himmel stattfand, ist die Assimilation der Blutulme relativ noch kleiner, als in den beiden anderen Versuchen, was ein Analogon bildet zum Assimilationsversuch bei der Hasel.

Beim Atmungsversuch mit *Ulmus montana* wurden 28 Blätter, die ein Frischgewicht von 20 g hatten, benutzt; die 25 Blätter von *Ulmus montana aurea* wogen 23,1 g und die 31 Blätter der Blutulme 20 g. Es ergab sich:

9

Varietät	Temperatur	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2
Ulmus mont.	16,3° C.	8^{37}—12^{13}	48,2 mg	100
		12^{13}—3^{57}	47,3 mg	
		3^{57}—6^{27}	48,0 mg	
aurea	16,5° C.	9^{12}—12^{12}	43,4 mg	91,21
		12^{12}—4^{45}	43,8 mg	
atropurp.	16,5° C.	8^{19}—11^{35}	45,29 mg	94,31
		11^{35}—3^{42}	43,42 mg	
		3^{42}—5^{42}	46,55 mg	

Auch die Atmungsversuche zeigen eine, wenn auch nicht bedeutende Beeinflussung der Atmungsintensität vom Chlorophyllgehalt bzw. vom Anthocyangehalt. Die chlorophyllreichste, aber anthocyanhaltige *atropurpurea* atmet schwächer wie die normalgrüne Stammform entsprechend ihrer geringen Assimilation.

Es wurden mit zu gleicher Zeit abgeschnittenen Blättern Frisch- und Trockengewichtsbestimmungen ausgeführt; ferner wurden die trocknen Blätter verascht und in der Reinasche die vorhandenen SO_4, PO_4, Fe_2O_3, CaO und MgO-Mengen bestimmt.

Varietät	Frischgewicht der Blätter	Ihr Trockengewicht
typica	22,0 g	6,91
aurea	24,4 g	7,80
oder		
typica	100 g	31,4
aurea	100 g	31,9

Bei der Aschenbestimmung sind die relativen Zahlen der *aurea*:

Varietät	SO_4	PO_4	Fe_2O_3	CaO	MgO	Reinasche
typica	100	100	100	100	100	100
aurea	91,3	81,0	89,4	97,0	89,0	104,4

Trockengewicht und Reinasche sind bei beiden Varietäten also nur wenig voneinander verschieden. Dagegen sind alle relativen Zahlen für die untersuchten Aschenbestandteile der *aurea* kleiner als die entsprechenden der *typica*. Es muß dann für den Rest der nicht untersuchten Aschenteile (Na, K, Cl) ein größerer Wert der *aurea* übrig bleiben.

V. Atriplex hortensis, Atriplex hortensis chlorina und Atriplex hortensis atropurpurea[1]).

Die benutzten Pflanzen standen auf einem Versuchsfeld in gleichen Abständen nebeneinander. Für die Chlorophyllbestimmungen wurden aus mehreren gleichgewachsenen Blättern von jeder Varietät je 25 Plättchen ausgestanzt, nachdem aus den roten Blättern das Anthocyan durch kurzes Eintauchen in heißes Wasser entfernt worden war. Diese Chlorophyllbestimmungen ergaben:

Varietät	Frischgewicht der 25 Plättchen	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt der 25 Plättchen
typica	0,3682 g	100
chlorina	0,4048 g	35,26
atropurp.	0,3904 g	54,0

Zu den Assimilationsversuchen wurden stets verschiedene Pflanzen benutzt. Der erste Versuch fand statt am 22. Juli 1911 bei schönstem Wetter, der zweite am 2. August 1911 bei teils heiterem, teils bedecktem Himmel, der dritte am 8. August und der letzte am 7. September 1911, beide bei schönstem Wetter.

Diese Assimilationsversuche zeigen relativ starke Schwankungen in der Intensität der Assimilation sowohl bei *chlorina*, als auch besonders bei *atropurpurea*. Ein Teil der Unterschiede ist gewiß darauf zurückzuführen, daß stets verschiedene Pflanzen verwendet wurden, und so auch für *typica*, die den Maßstab zum Vergleich gibt, verschiedene Werte vorliegen. Bei *atropurpurea* mag noch hinzukommen, daß der Chlorophyllgehalt und die Anthocyanbildung mehr oder weniger unabhängig voneinander sind; es kann eine *typica atropurpurea* (vielleicht die Pflanze vom III. und IV. Versuch) und eine *chlorina atro-*

[1]) Die Samen waren auf dem Wege des Samenaustausches aus dem Botanischen Garten zu Stockholm bezogen.

purpurea (I. und II. Versuch) geben. Eine Chlorophyllbestimmung aller benutzten Pflanzen wurde leider nicht gemacht, da dieser Punkt nicht rechtzeitig beachtet wurde.

10

	Varietät	1 m^2 wiegt morgens	1 m^2 wiegt abends	Differenz	Durchschnitts-differenz von typica = 100
I. Versuch 8^{30} h. a. — 4 h. p.	typica				
	Pflanze I	40,7077 g	44,4787 g	3,7710 g	100 g
	Pflanze II	39,7003 g	43,7416 g	4,0413 g	
	chlorina	32,6980 g	34,9215 g	2,2235 g	56,92 g
	atropurp.	35,3933 g	37,4145 g	2,0212 g	51,74 g
II. Versuch 10 h. a. — 5 h. p.	typica	46,4470 g	49,6055 g	3,1585 g	100 g
	chlorina	44,0111 g	46,1050 g	2,0939 g	66,30 g
	atropurp.	40,4640 g	42,2109 g	1,7469 g	55,32 g
III. Versuch 10^{30} h. a — 5 h. p.	typica	36,9998 g	45,4140 g	8,4142 g	100 g
	chlorina				
	Pflanze I	49,6337 g	52,9387 g	3,3050 g	39,10 g
	Pflanze II	37,8250 g	41,1000 g	3,2750 g	
	atropurp.				
	Pflanze I	39,0530 g	45,0320 g	5,9790 g	68,10 g
	Pflanze II	43,5780 g	49,0590 g	5,4810 g	
IV. Versuch 10 h. a. — 4^{30} h. p.	typica	44,2550 g	50,6788 g	6,4238 g	100 g
	chlorina	34,8092 g	37,8242 g	3,0150 g	46,94 g
	atropurp.	49,6944 g	54,9925 g	5,2981 g	82,47 g

Es wurden auch mehrere Atmungsversuche angestellt, und zwar wurden bei jedem Versuch nur Blätter einer anderen Pflanze angewendet. Beim ersten Versuch mit *Artiplex hortensis typica* hatten die 29 Blätter ein Frischgewicht von 15,03 g, bei einem zweiten Versuch 29 Blätter ein solches von 11,20 g, beim ersten Versuch mit

11

	Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatm. CO_2 für typ. = 100
I. Versuch	typica	18,1° C.	10^{50}—1^{17}	87,54 mg	
	Pflanze I		1^{17}—3^{20}	86,27 mg	
II. Versuch	Pflanze II	21,0° C.	8^{55}—12^{01}	92,67 mg	100
			12^{01}—3^{56}	91,64 mg	
			3^{56}—5^{04}	95,13 mg	
III. Versuch	chlorina	19,0° C.	9^{24}—12^{37}	72,42 mg	
	Pflanze I		12^{37}—3^{33}	70,43 mg	
			3^{33}—5^{33}	71,45 mg	79,70
IV. Versuch	Pflanze II	20,8° C.	9^{15}—12^{36}	75,86 mg	
			12^{36}—5^{06}	71,10 mg	
V. Versuch	atropurp.	19,1° C.	8^{30}—10^{52}	72,80 mg	
			10^{52}—3^{18}	74,63 mg	82,40
			3^{18}—5^{20}	76,67 mg	

chlorina 30 Blätter ein Frischgewicht von 14,27 g, beim zweiten Versuch 30 Blätter eins von 15,82 g und endlich wogen bei *atropurpurea* 24 frische Blätter 15,25 g. Die Versuche fanden im August 1911 statt; ihr Ergebnis pro Stunde und 100 g Frischgewicht zeigt Tab. 11 (S. 270).

Diese Versuche zeigen die relativ bedeutenden individuellen Schwankungen der einzelnen Varietäten untereinander. Es ist aber die CO_2-Menge, die von der Stammform ausgeatmet wird, immer größer als die von den Varietäten ausgeatmete; die rote Varietät scheint aber etwas stärker zu atmen als die hellgrüne.

Es wurden auch einige Frisch- und Trockengewichtsbestimmungen und zwei Aschenanalysen ausgeführt.

Zur Frischgewichtsbestimmung wurden Mitte September 1911 ganze ausgewachsene Pflanzen mit Früchten dicht über dem Erdboden abgeschnitten und dann ihre Höhe und ihr Gewicht bestimmt. Darauf wurde die ganze oberirdische Pflanze zerkleinert, in einem Wärmeschrank bei 105° C. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und ihr Trockengewicht festgestellt. Endlich wurde nach der in der Einleitung beschriebenen Methode die Trockensubstanz der Pflanzen verascht und die Asche auf SO_4, PO_4, Fe_2O_3, CaO und MgO untersucht.

Varietät	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Ihr Trockengewicht
typica			
Pflanze I	1,13 m	117,2 g	38,8 g
Pflanze II	1,07 m	121,4 g	39,9 g
Pflanze III	1,21 m	140,7 g	42,2 g
chlorina			
Pflanze I	1,03 m	71,4 g	23,7 g
Pflanze II	1,02 m	84,2 g	27,9 g
Pflanze III	0,98 m	66,0 g	21,0 g

Durchschnitt: typica 100 100 100
chlorina 8,86 58,7 60,0

Die Aschenanalysen ergaben für *typica* und *chlorina* die folgenden relativen Zahlen

Varietät	SO_4	PO_4	Fe_2O_3	CaO	MgO	Reinasche
typica	100	100	100	100	100	100
chlorina	93,2	96,1	108,0	84,2	80,8	110,3

Diese Bestimmungen ergeben den etwas kleineren Wassergehalt und den ziemlich größeren Aschengehalt der *chlorina*-Sippe. In der-

selben Menge Reinasche sind aber bei *chlorina* die untersuchten Substanzen mit Ausnahme des Eisens in geringerer Menge vorhanden: deshalb wird K, Na und Cl, auf die nicht untersucht wurde, in der *chlorina* in größerer Menge vorhanden sein.

VII. Mirabilis Jalapa typica, Mirabilis Jalapa chlorina und Mirabilis Jalapa variegata.

Am eingehendsten wurde *Mirabilis Jalapa*, von dem mir sehr viel Untersuchungsmaterial aus den Kulturen von Herrn Prof. Dr. C. Correns zur Verfügung stand, untersucht. Die Versuche wurden teils mit ca. 13 cm hohen Keimlingen, teils mit erwachsenen Pflanzen ausgeführt.

Die Chlorophyllbestimmungen, die an einem Alkoholextrakt von je 30 Plättchen der *typica* und der *chlorina* gemacht wurden, ergaben:

Varietät	Frischgewicht von 30 Plättchen	Chlorophyllmenge der Plättchen im Alkoholextrakt
typica	0,2872 g	100
chlorina	0,2675 g	32,4*)

A. Versuche mit Keimlingen.

Die Keimlinge hatten sich zu etwa 30 Stück in je einem großen Topf entwickelt. In jedem Topf waren meist 3/4 der Pflanzen *typica* und 1/4 *chlorina*, da es sich um die Nachkommenschaft spaltender Bastarde handelte. Für die Assimilationsversuche wurden nun zwei Tage vor Anfang des Versuches die *chlorina*- bzw. die *typica*-Pflanzen aus den einzelnen Töpfen entfernt, so daß in den benutzten Töpfen nur je eine Sippe stand. Eine kleine Fehlerquelle blieb dadurch bestehen, daß die grünen Heterozygoten, die etwas weniger Chlorophyll enthalten als die *typica*-Homozygoten (Correns 1902), nicht von diesen letzteren getrennt wurden. Der Unterschied ist aber gegenüber dem Verhalten der *chlorina* nicht so groß, daß er berücksichtigt werden müßte. Nach den üblichen Vorbereitungen wurden die zu untersuchenden Pflanzen in ihren Töpfen auf kurzgeschnittenen Rasen aufgestellt, so daß die Sonne ungestört auf die Pflanzen wirken konnte.

Der erste Assimilationsversuch fand statt am 4. Juli 1911, der zweite am 6. Juli 1911 und der dritte am 13. Juli 1911. Bei allen Versuchen war schönstes Sonnenwetter; es wurden immer solche Pflanzen benutzt, die das erste Laubblattpaar fertig, das zweite halb entwickelt hatten. Genommen wurden die Blätter des einzigen fertigen

---

*) Von Correns waren früher (1908) 28—30% gefunden worden.

Laubblattpaares. Zusammen gehören in den Versuchen immer die Pflanzen, die sich in einem Topf entwickelten; die einzelnen Töpfe waren nummeriert.

12

	Varietät	1 m² wiegt morgens	abends	Differenz	Differenz von typica = 100
I. Versuch 8 h. a. — 3³⁰ h. p.	typica 11.505	17,7888 g	20,4752 g	2,6864 g	100
	chlorina 11.372	14,7370 g	15,8460 g	1,1090 g	41,20
	chlorina 11.513	15,9211 g	17,0256 g	1,1045 g	
II. Versuch 8 h. a. — 4 h. p.	typica 11.368	18,1700 g	20,7581 g	2,5881 g	100
	typica 11.328	18,6987 g	21,4355 g	2,7368 g	
	typica 11.504	18,1842 g	21,1905 g	3,0063 g	
	chlorina 11.445	14,0752 g	15,5346 g	1,4594 g	50,54
	chlorina 11.501	14,2080 g	15,5564 g	1,3484 g	
III. Versuch 7¹⁵ h. a. — 4 h. p.	typica 11.438	30,3879 g	33,8091 g	3,4212 g	100
	typica 11.469	29,8580 g	33,3580 g	3,5000 g	
	typica 11.460	28,2113 g	31,6448 g	3,4335 g	
	chlorina 11.467.	13,7912 g	15,2923 g	1,5011 g	42,64
	chlorina 11.370	16,2898 g	17,6551 g	1,3653 g	
	chlorina 11.480	14,9893 g	16,5011 g	1,5118 g	
	chlorina 11.333	14,6070 g	16,1144 g	1,5074 g	

Aus diesen Versuchen ergibt sich die geringe Assimilationstätigkeit der *chlorina,* die weniger als halb so viel Kohlehydrate bildet wie die normalgrüne *typica.*

Mit diesen Keimlingen wurden auch Atmungsversuche ausgeführt. Die Pflanzen wurden ca. 1 mm unter den Cotyledonen abgeschnitten und dann das abgeschnittene Stück, das meist aus den beiden Cotyledonen und zwei Laubblattpaaren bestand, in den Rezipienten des Atmungsapparates gebracht. Zu jedem Versuch wurden Pflanzen aus je einem Topf benutzt. Da sich nun in jedem Topf

³/₄ *typica*- und ¹/₄ *chlorina*-Pflanzen befanden, so konnte ich von den *typica* gute und kräftig entwickelte Pflanzen nehmen, mußte aber von den *chlorina* alles gebrauchen, auch die zurückgebliebenen und zwergigen Formen. Es kamen daher auf dasselbe Frischgewicht mehr *chlorina*- als *typica*-Pflanzen und daher war in demselben Frischgewicht eine bedeutend größere Oberfläche an *chlorina*-Pflanzen vorhanden. Diese größere Oberfläche beeinflußte das Resultat in der nächsten Tabelle, aus der hervorgeht, daß die *chlorina* stärker atmet als die *typica*.

Zu den Atmungsversuchen, die in dieser Tabelle mitgeteilt werden, wurden 6 ganze *chlorina*-Keimlinge, die ein Frischgewicht von 8,34 g hatten, dann 15 *typica*-Keimlinge aus demselben Topf von 29,62 g Frischgewicht, ferner 15 *chlorina*-Keimlinge von 26,33 g Frischgewicht aus einem andern Topf und endlich 20 *typica*-Keimlinge aus diesem anderen Topf von 49,22 g Frischgewicht benutzt. Es ergibt sich dann pro Stunde und 100 g Frischgewicht

13

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2-Menge v. typ. = 100
typica, I. Topf	14° C.	8^{43}—12^{32}	26,08 mg	100
		12^{32}—5^{12}	26,26 mg	
typica, II. Topf	14,2° C.	8^{47}—1^{24}	18,43 mg	
		1^{24}—5^{30}	18,29 mg	
chlorina, I. Topf	13,5° C.	10^{23}—4^{44}	30,29 mg	113,02
chlorina, II. Topf	13,8° C.	9^{49}—1^{08}	23,05 mg	
		1^{08}—4^{17}	22,15 mg	

Zu den folgenden Atmungsversuchen wurden aus mehreren Töpfen gleich große und schwere *chlorina*- und *typica*-Pflanzen ausgesucht, und zwar je 17 *chlorina*- und 17 *typica*-Pflanzen von je 32,02 g Frischgewicht.

14

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2-Menge der typica = 100
typica	13,8° C.	10^{00}—1^{00}	38,79 mg	100
		1^{00}—4^{21}	38,56 mg	
chlorina	13,7° C.	8^{41}—11^{53}	24,69 mg	64,54
		11^{53}—3^{15}	22,49 mg	
		3^{15}—5^{00}	25,99 mg	

In diesem Falle, in dem die *chlorina*- und *typica*-Pflanzen ausgesucht gleich waren, wurde ein deutlicher Unterschied in der Atmungsintensität zugunsten der *typica* gefunden. Dies Ergebnis wurde durch

die Atmungsversuche mit erwachsenen Pflanzen bestätigt und dadurch bewiesen, daß beim ersten Versuch Nebenumstände ein abweichendes Resultat bedingt hatten.

B. Versuche mit erwachsenen Pflanzen.

Die Pflanzen standen auf dem Versuchsfeld in gleichen Abständen unter guten Beleuchtungsverhältnissen. Zu allen Versuchen wurden verschiedene Pflanzen benutzt und die gebrauchten Blätter assimilierten an der Pflanze. Die Versuche wurden im Spätsommer 1910 begonnen und im Jahre 1911 fortgesetzt.

I. Versuche vom Jahre 1910.

Der erste Assimilationsversuch war am 13. August 1910, der zweite am 15. August, der dritte Ende August, der vierte am 21. August und der letzte am 13. Oktober 1910. Bei den drei ersten Versuchen war sonniges schönes Wetter, bei den beiden letzten war teils heiteres, teils trübes Wetter. Im dritten und vierten Versuch wurden die Blätter einer Pflanze von normalem Wuchs und die einer anderen von zwergigem Habitus (Sippe *nana*) benutzt. Der Höhenunterschied ist bedeutend; *nana* wird auf einem Boden, auf dem *typica* 80—90 cm hoch wird, in einem Jahr nur etwa 30 cm hoch.

15

	Varietät	1 m² wiegt		Differenz	Differenz der typica = 100
		morgens	abends		
I. Versuch 9 h. a. — 4 h. p.	typica	31,01 g	35,77 g	4,76 g	100
	chlorina	26,75 g	28,26 g	1,51 g	31,72
II. Versuch 8 h. a. — 4^{30} h. p.	typica	25,16 g	32,81 g	7,65 g	100
	chlorina	26,33 g	28,47 g	2,14 g	27,8
III. Versuch 9 h. a. — 4^{30} h. p.	typica	34,88 g	48,28 g	13,40 g	100
	typica nana	26,81 g	36,89 g	10,08 g	75,22
IV. Versuch 9 h. a. — 3 h. p.	chlorina	19,49 g	21,89 g	2,40 g	100
	chlorina nana	20,30 g	22,52 g	2,22 g	92,50
V. Versuch	typica	24,92 g	25,23 g	0,31 g	100
	chlorina	20,58 g	20,70 g	0,12 g	38,71

II. Versuche aus dem Jahre 1911.

Der erste Assimilationsversuch war am 27. Juli 1911, der zweite am 10. August und der letzte am (?) 21. August 1911. Stets war schönstes Sonnenwetter. Beim dritten Versuch wurden Blätter einer Pflanze, die gescheckt waren (Sippe *variegata*), benutzt. Außerdem war an dieser Pflanze ein Ast mit ganz normalgrünen Blättern ausgebildet, der im folgenden mit *typica (variegata)* bezeichnet werden

soll. Dieser grüne Ast verhält sich nach den Untersuchungen von Correns wie der Bastard zwischen *variegata* und *typica*; daher muß die geringe Assimilationstätigkeit seiner Blätter nicht auffallen.

16

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Differenz der typica = 100
I. Versuch 8^{30} h. a. — 4^{15} h. p.	typica bes. groß	35,8131 g	43,5200 g	7,7069 g	128,2
	typica Pfl. I	38,0135 g	44,0700 g	6,0565 g	
	typica II	35,1250 g	41,1606 g	6,0356 g	100
	typica III	31,0550 g	36,9800 g	5,9250 g	
	chlorina I	35,6689 g	38,4430 g	2,7741 g	
	chlorina II	38,4183 g	40,8400 g	2,4217 g	44,79
	chlorina III	35,9002 g	38,7736 g	2,8734 g	
II. Versuch 6^{15} h. a. — 3 h. p.	typica	28,8647 g	35,2716 g	6,4069 g	100
	typica groß	35,1358 g	43,1050 g	7,9692 g	124,39
	chlorina I	32,5664 g	35,0867 g	2,5203 g	37,58
	chlorina II	28,5400 g	30,8372 g	2,2972 g	
III. Versuch	typica I	42,8130 g	46,5811 g	3,7681 g	100
	typica II	36,5475 g	40,1864 g	3,6389 g	
	chlorina	45,6444 g	47,0644 g	1,4200 g	38,35
	variegata	41,0745 g	43,5420 g	2,4675 g	66,61
	typica (variegata)	36,5250 g	39,8973 g	3,3723 g	91,06

Setzt man den Assimilationswert von *typica* = 100, so ergeben die Versuche für *chlorina* die folgenden der Größe nach geordneten Zahlen

27,8 31,72 37,58 **38,35** **38,71** 41,20 42,64 44,79 50,54

und den Mittelwert **38,2**.

Die Assimilationsgröße der *variegata*-Sippe fällt natürlich verschieden aus, je nachdem mehr oder weniger normalgrüne Flecken auf dem hellgrünen *chlorina*-Grund vorhanden sind.

Aus den Chlorophyllbestimmungen hatte sich der Wert 32,4 für die *chlorina* ergeben. Die Assimilationsversuche zeigen nun das relativ bedeutende Schwanken der Assimilationswerte für *chlorina*; die Zahlen pendeln aber ziemlich gleich weit von den Mittelwerten, die bei 38,2 liegen. Dieser Wert ergibt die geringe Assimilationstätigkeit der *chlorina*. Das Pendeln der Werte wird seinen Grund haben in den Schwankungen des Chlorophyllgehaltes bei verschiedenen Individuen der normalgrünen und der hellgrünen Sippe. Nach Correns (1908) ist im Extrem ein nicht erhebliches Schwanken des Chlorophyllgehaltes bei verschiedenen Individuen derselben Sippe um 50% möglich. Auch in meinen Versuchen zeigen die beiden Extreme einen recht bedeutenden Unterschied in der Assimilationstätigkeit; die Mehrzahl der Resultate liegt aber näher zum Mittelwert hin.

Es wurden nun auch Atmungsversuche mit Blättern von erwachsenen Pflanzen ausgeführt. Zum ersten Versuch wurden 23 Blätter einer *typica*, die ein Frischgewicht von 35,8 g hatten, zum zweiten 15 Blätter einer anderen *typica* von 15 g Frischgewicht, zum dritten 23 Blätter einer *chlorina* von 35,4 g Frischgewicht und zum letzten 24 Blätter einer anderen *chlorina* von 25,9 g Frischgewicht benutzt.

17

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2 der typ. = 100
typica I. Pflanze	16,4° C.	9^{10}—12^{08}	50,46 mg	
		12^{08}— 3^{22}	52,61 mg	
		3^{22}— 4^{55}	51,36 mg	100
typica II. Pflanze	15,0° C.	9^{00}—12^{19}	50,35 mg	
		12^{19}— 5^{01}	49,80 mg	
chlorina I. Pflanze	16,8° C.	9^{00}—11^{11}	38,81 mg	
		11^{11}— 1^{26}	39,69 mg	
		1^{26}— 3^{58}	37,14 mg	76,1
chlorina II. Pflanze	15,2° C.	8^{24}—11^{24}	37,83 mg	

Es folgt aus diesen Versuchen die geringere Atmungsintensität der *chlorina*, die durch ihr sparsameres Umgehen mit den gebildeten Kohlehydraten resp. den daraus gebildeten Produkten einen Teil des Ausfalles, den sie durch die schwächere Assimilationstätigkeit erleidet, wieder gut macht.

Da für den Gasverkehr in den Blättern die Zahl der Spaltöffnungen von großer Wichtigkeit ist, so wurden Zählungen der Spaltöffnungen mit dem Mikroskop bei Okular 3 Objektiv VII vorgenommen. Bei zwei Blättern ergaben die Zählungen

Varietät	Zahl der Spaltöffnungen		Varietät	Zahl der Spaltöffnungen	
	Unterseite	Oberseite		Unterseite	Oberseite
1 Blatt der chlorina	31	7	1 Blatt der typica	14	4
	27	7		14	3
	31	7		16	5
	26	6		16	2
	33	7		18	4
	26	5		14	3
	29	5		15	5
	27	7		17	4
	28	5		15	5
	28	6		18	4
Durchschnitt	28,6	6,2		15,7	3,9

Auf diese Weise wurden noch Zählungen mit je vier anderen Blättern vorgenommen und als Mittel ergab sich aus den Zählungen, daß die Blätter von *chlorina* auf der Oberseite 22%, auf der Unterseite 21% Spaltöffnungen mehr besitzen, als die entsprechenden Blattseiten der *typica*. Dies Resultat gibt vielleicht eine Deutung des Ergebnisses, daß, trotzdem die Chlorophyllmenge bei der Sippe *chlorina* nur 32,4% von der der *typica* beträgt, ein durchschnittlicher Assimilationswert von 38,2% erhalten wurde; denn die *chlorina* hat möglicherweise, wenn wir gleichweite Öffnungen der Spalten annehmen dürfen, einen Vorteil in der Ausbildung eines besseren stomatären Durchlüftungssystems. Ein Plus von 22% von 32,4 ergibt wenigstens einen Wert von 39,5, der dem tatsächlich beobachteten sehr nahe kommt.

Von *Mirabilis Jalapa* wurden auch zahlreiche Frischgewichtsbestimmungen ausgeführt. Im Frühjahr 1911 wurden von den schon früher erwähnten Keimlingen, die eine durch Selbstbefruchtung von *chlorina* oder *variegata* + *typica*-Bastarden entstandene Nachkommenschaft waren, Frischgewichtsbestimmungen gemacht. Für diese Bestimmungen wurden aus den Töpfen, in denen sich die Keimlinge entwickelt hatten, zuerst alle *chlorina*-Pflanzen herausgezogen und diese dann 1 mm unter den Kotyledonen abgeschnitten. Darauf wurden die Keimlinge sofort auf einer Handwage gewogen und dann dasselbe mit den *typica*-Keimlingen desselben Topfes gemacht. Diese Wägungen ergaben, wenn man das Gewicht der *typica* in jedem Topf gleich 100 setzt, die folgenden Werte:

Topfnummer	Gewicht der chlorina für typ. = 100	Topfnummer	Gewicht der chlorina für typ. = 100
481.5	66,08	509.2	75,37
481.5	68,87	421.2	78,88
312.4	70,96	420	79,56
426.2	72,83	413	82,35
450	72,42	481.5	82,44
548.2	72,62	294	82,68
451	83,43	425	92,51
403	84,53	312.4	96,85
398.4	85,16	485.3	97,72
548.2	85,71	485.3	99,08
334.5	87,35	395	100,49
481.5	87,72	515	101,35
414.2	88,32	399.3	103,17
311	88,71	411.2	109,52
380	89,14	394.2	111,06
313	90,74	409	117,40
334.5	92,36		

Diese Zahlen geben für *typica* = 100 den Wert 87,12 für *chlorina*. Diese Werte sind an 798 Keimlingen, von denen 588 *typica* und 210 *chlorina* waren, gewonnen. Man sieht an den Zahlen in der Tabelle ein deutliches Schwanken um den Mittelwert herum; die extremen Abweichungen von diesem Wert sind aber bedeutend. Alle diese Wägungen wurden Anfang Juni ausgeführt.

Ende September wurden nun auch Frischgewichtsbestimmungen von den Pflanzen ausgeführt, die im Mai auf das Versuchsfeld ausgepflanzt waren. Die Pflanzen waren Geschwister, hatten den Sommer hindurch in gleichen Abständen voneinander unter denselben Bedingungen gestanden und wurden für die Bestimmungen direkt unter dem ersten Seitenzweig abgeschnitten. Es wurde die Höhe der Pflanze gemessen, ihr Frischgewicht bestimmt und dann noch mit einer Schubleere die Dicke der drei untersten Internodien gemessen. Alle diese Bestimmungen ergaben die folgenden Zahlen:

Nach dem Gewicht geordnet ergibt sich für die Pflanzen von Nr. 11.402:

a) typica:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
43,1 cm	118,9 g	47,1 cm	301,0 g	57,1 cm	531,2 g
41,5 cm	148,1 g	54,8 cm	334,6 g	60,0 cm	624,3 g
49,1 cm	225,3 g	61,6 cm	343,9 g	59,4 cm	696,4 g
50,7 cm	234,5 g	59,7 cm	350,3 g	66,0 cm	726,2 g
47,0 cm	234,8 g	50,0 cm	392,4 g	63,5 cm	792,0 g
54,2 cm	237,1 g	52,0 cm	399,5 g	54,0 cm	799,9 g
48,6 cm	243,4 g	51,8 cm	482,0 g		

Der Durchschnitt ergibt eine Höhe von 53,6 cm, ein Frischgewicht von 410,8 g und eine Dicke des I. Internodiums von 11,0 · 12,4 mm², des II. von 9,4 · 10,0 mm² und des III. von 8,4 · 8,8 mm².

b) chlorina.

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
32,0 cm	70,0 g	42,2 cm	140,2 g	46,7 cm	294,0 g
49,9 cm	125,5 g	46,4 cm	154,2 g	43,1 cm	334,1 g

Der Durchschnitt liefert eine Höhe von 43,4 cm, ein Frischgewicht von 186,3 g und eine Dicke des I. Internodiums von 8,7 · 9,4 mm², des II. von 8,0 · 8,5 mm² und des III. von 7,2 · 7,7 mm².

Für die Pflanzen von Nr. 11.303 ergeben sich die Zahlen:

a) typica:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
48,1 cm	190,5 g	50,5 cm	271,1 g	57,2 cm	563,8 g
55,3 cm	210,0 g	54,0 cm	282,8 g	63,7 cm	623,0 g
47,6 cm	222,7 g	47,3 cm	287,4 g	53,8 cm	764,8 g
52,3 cm	224,1 g	46,3 cm	362,3 g	64,1 cm	874,0 g
41,7 cm	243,9 g	57,9 cm	499,6 g		

Im Durchschnitt ist die Höhe 52,8 cm, das Frischgewicht 402,1 g und die Dicke des I. Internodiums 11,0 · 12,5 mm², des II. Internodiums 9,2 · 10,0 mm² und endlich des III. Internodiums 8,4 · 8,9 mm².

b) chlorina.

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
38,2 cm	67,1 g	50,1 cm	233,2 g	42,9 cm	302,1 g
43,1 cm	116,8 g	48,2 cm	245,1 g	49,4 cm	356,0 g
39,4 cm	209,9 g	49,7 cm	271,9 g	51,2 cm	368,0 g
45,1 cm	219,6 g	51,2 cm	291,2 g	52,3 cm	380,5 g

Im Durchschnitt ist die Höhe 46,7 cm, das Frischgewicht 255,1 g, die Dicke des I. Internodiums 10,8 · 11,7 mm², des II. 8,9 · 9,4 mm² und des III. 8,4 · 8,7 mm².

Von einem andern Feld ergab sich:

a) typica:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
55,7 cm	133,0 g	57,9 cm	228,4 g	60,2 cm	442,5 g
57,2 cm	148,1 g	57,3 cm	230,5 g	55,5 cm	587,4 g
53,9 cm	185,4 g	54,0 cm	275,3 g		
51,5 cm	200,9 g	54,1 cm	277,5 g		

Durchschnittlich ist die Höhe 55,7 cm, das Frischgewicht 269,9 g. Die Dicke des I. Internodiums 10,3 · 11,6 mm², des II. 9,2 · 10,4 mm² und die des III. 8,4 · 9,0 mm².

Die Messungen an der *chlorina* von demselben Feld ergaben:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
44,1 cm	139,0 g	52,5 cm	300,0 g	56,2 cm	580,1 g
40,2 cm	175,2 g	47,7 cm	300,2 g		
47,5 cm	199,5 g	47,9 cm	390,5 g		

Im Durchschnitt ist die Höhe 48,0 cm, das Frischgewicht 297,8 g, die Dicke des I. Internodiums 10,5 · 12,4 mm², die des II. 9,6 · 9,9 mm und die des III. 8,6 · 8,9 mm².

Die Messungen an der Pflanzengruppe 11.421 ergaben:

a) typica:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
28,5 cm	44,7 g	67,1 cm	437,2 g	63,5 cm	726,8 g
36,4 cm	103,5 g	56,6 cm	449,8 g	64,3 cm	805,1 g
47,7 cm	144,8 g	70,0 cm	502,2 g	65,1 cm	970,4 g
55,3 cm	353,4 g	62,5 cm	583,1 g	78,9 cm	1085,0 g
59,3 cm	361,4 g	62,6 cm	611,3 g		
62,0 cm	402,5 g	62,4 cm	623,5 g		

Im Durchschnitt ist die Höhe 59,2 cm, das Frischgewicht 537,9 g, die Dicke des I. Internodiums 12,2 · 13,8 mm², die des II. 10,3 · 11,6 mm² und die des III. 9,3 · 10,3 mm².

b) chlorina:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
55,4 cm	193,4 g	56,5 cm	272,3 g	59,9 cm	587,5 g
49,4 cm	210,0 g	57,6 cm	306,8 g	49,0 cm	644,2 g

Die Durchschnittswerte sind für die Höhe 54,7 cm, das Frischgewicht 369,0 g, die Dicke des I. Internodiums 11,5 · 13,2 mm², die des II. 10,1 · 11,5 und die des III. 9,5 · 10,3 mm².

Für die Pflanzen eines anderen Feldes ergab sich:

a) typica:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
42,3 cm	102,8 g	52,6 cm	259,5 g	53,0 cm	455,9 g
49,2 cm	169,0 g	55,2 cm	262,7 g	50,3 cm	477,8 g.
49,5 cm	174,4 g	48,1 cm	284,0 g	52,6 cm	538,1 g
47,2 cm	199,0 g	52,5 cm	320,5 g	52,7 cm	604,8 g
48,8 cm	202,4 g	48,3 cm	392,0 g	52,8 cm	632,5 g
43,7 cm	214,7 g	46,1 cm	409,0 g		
51,5 cm	214,8 g	53,2 cm	445,6 g		

Die Durchschnittswerte ergaben für die Höhe 54,6 cm, für das Gewicht 336,3 g und für die Dicke des I. Internodiums 10,7 · 12,1 mm², des II. 9,1 · 9,6 mm² und des III. 8,3 · 8,7 mm².

b) chlorina:

Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht	Höhe der Pflanze	Ihr Frischgewicht
38,3 cm	108,3 g	47,0 cm	168,9 g	51,1 cm	266,8 g
41,4 cm	113,1 g	42,0 cm	184,0 g	48,8 cm	277,2 g
36,4 cm	88,9 g	46,0 cm	207,3 g		
42,0 cm	130,6 g	43,0 cm	216,5 g		

Im Durchschnitt ist die Höhe 44,6 cm, das Frischgewicht 176,2 g, die Dicke des I. Internodiums 8,2 · 9,1 mm², die des II. 7,8 · 8,5 mm² und die des III. 7,3 · 7,7 mm².

Aus allen Bestimmungen an 118 Pflanzen, von denen 77 *typica* und 41 *chlorina* waren, ergab sich für *typica* als Höhe 55,2 cm, als Frischgewicht 391,4 g und für *chlorina* als Höhe 47,5 und als Frischgewicht 256,9 g. Setzt man die entsprechenden Werte für *typica* gleich 100, so wird für *chlorina* die Höhe 86,05, das Frischgewicht 65,70.

Des weiteren wurden noch einige Bestimmungen über mehrere Pflanzen spezieller ausgeführt. Von diesen Pflanzen wurde zunächst die Höhe, ihr Frischgewicht und das Frischgewicht ihrer Blätter festgestellt. Um die Gesamtoberfläche der Blätter einer Pflanze zu berechnen, wurde geradeso verfahren, wie bei der Bestimmung der Blattfläche für die Assimilationsversuche, nämlich durch Kopieren der Blätter auf lichtempfindlichem Papier von bekannter Größe und nachfolgendes Ausschneiden der Kopien. Dann wurde die Anzahl der kopierten Blätter gezählt, und endlich die ganze Pflanze in einem Wärmeschrank bei 105⁰ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; diese Bestimmungen ergaben folgende Zahlen (siehe nebenstehende Tabelle):

Aus der letzten Tabelle ergibt sich eine ziemliche Übereinstimmung des Mittelwertes der Höhe und des Frischgewichtes mit den früher gefundenen Zahlen. Dann folgt daraus, daß *chlorina* im Verhältnis zum Frischgewicht der ganzen Pflanze ein erheblich größeres Frischgewicht an Blattsubstanz besitzt, wie die *typica*. Ferner ist die Gesamtfläche der Blätter bei *chlorina* auf dasselbe Gesamtgewicht bezogen bedeutend größer als bei *typica*. Da nun die Anzahl der Blätter aber fast genau im Verhältnis der Gesamtfrischgewichte stehen, so folgt daraus, daß die durchschnittliche Blattgröße der *chlorina* größer sein muß, als die der *typica*, wie es denn auch die Tabelle ergibt. Endlich stimmen die relativen Zahlen der Frisch- und Trockengewichte fast überein. Zur besseren Übersicht sei eine

Bestimmung	I. Pflanzenpaar		II. Pflanzenpaar		III. Pflanzenpaar		IV. Pflanzenpaar		Durchschnittswert		Relativer Wert	
	typica	chlorina	typica	chlorina	typica	chlorina	typica	chlorina	typica	chlorina	typica	chlorina
Höhe der Pflanze	60,7 cm	49,3 cm	62,5 cm	59,6 cm	54,5 cm	50,4 cm	53,5 cm	55,4 cm	57,8 cm	53,7 cm	100	92,9
Ihr Frischgewicht	410,1 g	240,5 g	524,8 g	458,9 g	682,2 g	292,4 g	312,5 g	250,3 g	482,4 g	310,5 g	100	64,36
Frischgewicht der Blätter	91,1 g	70,0 g	111,7 g	130,0 g	138,5 g	68,6 g	65,3 g	57,6 g	100,1 g	81,7 g	100	81,6
Gesamtfläche der Blätter	5218,6 cm²	3899,4 cm²	5560,0 cm²	7434,2 cm²	6627,7 cm²	3661,4 cm²	3380,7 cm²	3007,7 cm²	5171,8 cm²	4500,7 cm²	100	87,0
1 m² Blatt wiegt	172,7 g	179,5 g	200,9 g	152,0 g	208,9 g	187,4 g	193,2 g	192,0 g	194,0 g	181,4 g	100	93,5
Anzahl der Blätter	539	360	938	948	1285	440	589	409	835	539	100	64,55
Durchschnittliche Blattfläche	9,72 cm²	10,83 cm²	5,92 cm²	7,83 cm²	5,16 cm²	8,32 cm²	5,74 cm²	7,36 cm²	6,64 cm²	8,58 cm²	100	129,2
Trockengewicht der Pflanze	63,4 g	37,2 g	81,4 g	70,8 g	103,8 g	45,2 g	48,8 g	38,7 g	74,4 g	47,9 g	100	64,38

Tabelle gegeben, die die relativen Frisch- und Trockengewichte bei den vorher angegebenen Pflanzen wiedergibt. In dieser Tabelle sind die entsprechenden Zahlen für *typica* = 100 gesetzt.

	Frischgewicht		Trockengewicht	
	typica	chlorina	typica	chlorina
1. Pflanzenpaar	100	58,66	100	58,68
2. Pflanzenpaar	100	87,44	100	86,98
3. Pflanzenpaar	100	42,86	100	43,55
4. Pflanzenpaar	100	80,1	100	79,3

Es kommen ferner auf 100 g Frischgewicht an Trockengewicht:

	typica	chlorina
1. Pflanzenpaar	15,46	15,47
2. Pflanzenpaar	15,51	15,43
3. Pflanzenpaar	15,45	15,22
4. Pflanzenpaar	15,62	15,46

Daraus folgt dann, daß die *chlorina*, freilich nur sehr wenig, mehr Wasser enthält als die *typica*.

Endlich wurden im Winter 1911/12 von *Mirabilis Jalapa typica* und *M. J. chlorina* einige Aschenbestimmungen ausgeführt. Auf 100 g Reinasche kamen in:

Varietät	SO_4	PO_4	Fe_2O_3	CaO	MgO	Auf 100 g Trockengewicht kommen Reinasche
typica, I. Pflanze	4,83 g	3,87 g	12,42 g	32,68 g	1,09 g	14,40 g
typica II.	6,65 g	3,67 g	13,63 g	38,84 g	1,43 g	16,39 g
typica III.	6,55 g	3,73 g	13,27 g	39,07 g	1,17 g	16,3 g
chlorina, I. Pflanze	7,28 g	3,55 g	8,72 g	34,46 g	0,67 g	19,15 g
chlorina II.	7,46 g	3,48 g	12,88 g	36,45 g	0,88 g	18,4 g
chlorina III.	7,47 g	3,48 g	11,08 g	36,11 g	0,97 g	19,3 g

Einige weitere Reinaschen-Bestimmungen gaben für 100 g Trockengewicht den Wert: *typica* 16,17, 15,82, *chlorina* 19,04.

Aus allen diesen Ergebnissen folgen für *chlorina*, den entsprechenden Wert für *typica* = 100 gesetzt, die Zahlen:

SO_4	PO_4	Fe_2O_3	CaO	MgO	Reinasche
121,1	93,1	83,1	96,7	70,0	120,0

Es ist also bei *chlorina* eine relativ größere Masse an Aschensubstanz vorhanden wie bei *typica*, und zwar 20% mehr; dies Resultat kann mit dem früheren Ergebnis, daß die Zahl der Spaltöffnungen bei *chlorina* um 22% größer ist als bei *typica*, in Verbindung ge-

bracht werden; es wäre verständlich, daß bei gesteigerter Transpiration eine Zunahme der Aschensubstanz eintritt. Mit Ausnahme des Wertes für SO_4 haben alle anderen bestimmten Stoffe einen kleineren Wert bei *chlorina*, als die entsprechenden bei *typica*; zu vermuten ist, daß K, Na und Cl, auf die nicht untersucht ist, bei *chlorina* in größerer Menge vorhanden sind als bei *typica*.

Überblicken wir jetzt einmal die gesamten Resultate, die die Untersuchungen von *Mirabilis*-Sippen ergeben haben, so sind die wichtigsten die folgenden:

1. Die hellgrüne Sippe *chlorina* bleibt in der Höhe um 14%, im Frischgewicht und Trockengewicht um 34% hinter der normalgrünen Sippe zurück.

2. Die *chlorina* enthält nur 32,4% Chlorophyll auf dieselbe Fläche wie *typica*; daher ist zu erwarten, daß, wenn man alle übrigen Faktoren gleichsetzen darf, die durchschnittlich zersetzte CO_2 bei der *chlorina* 32,4% von der durch die *typica* zersetzten beträgt. Als Mittel aus mehreren Versuchen ergab sich aber der Wert 38,2; möglicherweise spielt bei diesem Resultat die Tatsache eine Rolle, daß bei der *chlorina* 22% mehr Spaltöffnungen ausgebildet werden. Außerdem wird dadurch wohl auch die Transpiration gesteigert werden, wodurch sich die Zunahme der Aschensubstanz um 20% bei *chlorina* gut erklären würde.

3. Die Bestimmungen der Gesamtoberfläche der Blätter bei mehreren gewogenen Pflanzen beider Sippen zeigten, daß *chlorina* eine im Verhältnis zum Frischgewicht gleiche Anzahl Blätter wie die *typica* ausbildet, also, da sie nur $^{64}/_{100}$ so schwer wird, auch nur $^{64}/_{100}$ der Blattzahl der *typica* anlegt. Die durchschnittliche Oberfläche des einzelnen Blattes bei *chlorina* ist aber nur 29,2% größer als bei *typica*. Deshalb muß, verglichen mit *typica*, eine *chlorina*-Pflanze mehr assimilieren, als nach der Leistung der Flächeneinheit erwartet werden konnte. Bei gleichem Gesamtgewicht ist die Substanzzunahme der *chlorina* $\frac{38,2}{100} + \frac{38,2}{100} \cdot \frac{29,2}{100} = \frac{49,05}{100}$ von der der *typica*. Die *chlorina*-Sippe assimiliert also halb so stark wie die *typica*-Sippe, während der Gewichtsunterschied nicht 51%, sondern 35,5% beträgt. Es muß also die *chlorina* sonst irgendwo einen Vorteil haben.

4. Bei *chlorina* atmen die Blätter weniger stark wie bei *typica*; *chlorina* verbraucht nur $\frac{76.1}{100}$ von der Substanz, die die *typica* veratmet. Durch diese geringere Atmung muß ein Teil des Defizits aufgehoben werden; ob vollständig, ließe sich nur durch viel eingehendere Versuche, als ich sie anstellen konnte, ermitteln. Auch ist nicht zu vergessen, daß vielleicht ungleich rasche und ungleich starke Ab-

leitung der Assimilate bei meinen Versuchen eine Rolle gespielt haben konnte. Ich bin mir wohl bewußt, daß diese ganze Bilanzaufstellung nur annähernd richtig sein kann.

VII. Liriodendron tulipifera und Liriodendron tulipifera aureomarginata.

Die benutzten Pflanzen standen als zwei ca. 1 m hohe Sträucher auf dem Versuchsfeld nebeneinander. Die Blätter der Varietät waren um die Mittelrippe herum normalgrün gefärbt, besaßen aber einen breiten gelben Rand.

Beim Assimilationsversuch am 27. August 1911 war sonniges Wetter; die benutzten Triebe wurden abgeschnitten und in Wasser gestellt.

18

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Differenz der typ. = 100
Versuch 8 h. a. — 1 h. p.	typica				
	Trieb I	38,5200 g	39,5600 g	1,0400 g	100
	Trieb II	41,7973 g	42,8110 g	1,0137 g	
	Trieb III	39,4036 g	40,3627 g	0,9591 g	
	aureo marg.				
	Trieb I	42,3030 g	43,0570 g	0,7540 g	71,9
	Trieb II	42,3138 g	42,9990 g	0,6852 g	

Daraus folgt eine um 28% schwächere Assimilation der gelbgeränderten Varietät.

VIII. Tropaeolum majus typicum und Tropaeolum majus chlorinum.

Es werden Pflanzen benutzt, die auf einem Versuchsfeld nebeneinander ausgepflanzt waren. Einige der *typica*-Pflanzen hatten ganz dunkelgrün gefärbte Blätter, andere etwas hellergrüne. Mit diesen letzteren und denen der *chlorina*-Sippe wurden in gewohnter Weise Chlorophyllbestimmungen ausgeführt.

Varietät	Gewicht von 25 Plättchen	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt der 25 Plättchen
typicum	0,2422 g	100
chlorinum	0,1944 g	39,2

Die Assimilationsversuche fanden stets bei schönstem Wetter statt, und zwar der erste Mitte August 1910, die beiden folgenden Ende August 1910 und der letzte 20. September 1911.

	Varietät	1 m² wiegt morgens	abends	Differenz	Differenz der typ. = 100
I. Versuch	typicum	33,20 g	37,84 g	4,64 g	100
	chlorinum	15,67 g	18,25 g	2,58 g	55,5
II. Versuch	bes. dunkles typicum	32,63 g	36,80 g	4,17 g	100
	chlorinum	16,50 g	18,51 g	2,01 g	48,0
III. Versuch	typicum	36,46 g	42,10 g	5,64 g	100
	chlorinum	19,58 g	22,95 g	3,37 g	59,8
IV. Versuch 11 h. a. — 3^{30} h. p.	bes. dunkles typicum	61,1300 g	62,2886 g	1,1586 g	127,8
	typicum	48,0940 g	49,0000 g	0,9060 g	100
	chlorinum	46,6100 g	47,2922 g	0,6822 g	75,3

Aus allen Versuchen ergibt sich eine Abnahme der Assimilationstätigkeit mit dem Chlorophyllgehalt, wenn auch kein völliges Parallelgehen.

IX. Ptelea trifoliata und Ptelea trifoliata aurea.

Von jeder Varietät waren zwei Sträucher im Versuchsfeld angepflanzt. Die *aurea*-Sträucher, die hellgelbe Blätter hatten, sind im folgenden als Pflanze I und Pflanze II unterschieden. Die gelbe Farbe rührt nicht her von einem Überwiegen der gelben Chlorophyllbestandteile, sondern, worauf auch Kränzlin (1908) hinweist, von einer größeren Verdünnung des Chlorophylls. Nach Kränzlin nehmen bei *Ptelea aurea* die Chlorophylline und Carotine gleichmäßig ab, das Xanthophyll bleibt dagegen bei der Stammform und der Varietät in fast gleicher Konzentration bestehen. Die „*aurea*" ist also in Wirklichkeit eine *chlorina*.

Die in gewohnter Weise ausgeführten Chlorophyllbestimmungen ergaben:

Varietät	Gewicht von 25 Plättchen	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt der 25 Plättchen
typica	0,1675 g	100
aurea	0,1872 g	53,4

Der erste Assimilationsversuch fand statt am 17. Juni 1911 bei teils heiterem, teils bedecktem Wetter, der zweite am 11. September bei schönstem Sonnenschein.

20

	Varietät	1 m^2 wiegt morgens	1 m^2 wiegt abends	Differenz	Differenz der typ. = 100
I. Versuch 9 h. a. — 4 h. p.	typica	31,3089 g	36,0583 g	4,7494 g	100
	aurea Pfl. I	35,4283 g	37,7182 g	2,2899 g	53,6
	aurea Pfl. II	31,7553 g	34,5600 g	2,8047 g	
II. Versuch 9 h. a. — 4 h. p.	typica	36,1933 g	43,3240 g	7,1307 g	100
	aurea Pfl. I	47,4000 g	50,3355 g	2,9355 g	41,2

Beide ergeben die geringe Assimilationstätigkeit der gelbblättrigen Sippe, die etwa parallel der Chlorophyllkonzentration abgenommen hat.

Für die Atmungsversuche wurden 22 Blattdrillinge der *typica* von 47,8 g und 27 Blattdrillinge der *aurea* Pfl. I von 52 g Frischgewicht benutzt.

21

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2-Menge von typ. = 100
typica	16° C.	9^{24}—11^{57}	50,46 mg	100
		11^{57}—3^{31}	53,37 mg	
		3^{31}—5^{13}	52,59 mg	
aurea	15,1° C.	8^{47}—10^{51}	45,61 mg	84,1
		10^{51}—12^{55}	42,86 mg	
		12^{55}—3^{59}	43,86 mg	

Daraus folgt die geringere Atmungstätigkeit der *aurea*.

X. Ricinus.

Der folgende Assimilationsversuch wurde angestellt, um einen Vergleich der Assimilationstätigkeit einer normalgrünen und einer rotblättrigen Pflanze bei heller Sonne und bei diffusem Licht auszuführen. Die Versuchsanordnung war die folgende. Zwei nebeneinanderwachsende *Ricinus*-Pflanzen, deren eine normalgrüne Blätter hatte, deren andere aber schön dunkelrot gefärbt war, wurden so beschnitten, daß nur einige besonders schön ausgebildete Blätter an jeder Staude verblieben. Nach einiger Zeit wurden dann die Blätter, die übrig geblieben waren, durch Verdunkelung mittels der in der Einleitung erwähnten Säcke für den Assimilationsversuch vorbereitet. Vor einige Blätter wurden nun durch geeignete Befestigung an Stativen Schirme aus weißem Seidenpapier parallel zu ihrer Oberfläche gestellt, die die Blätter vor der direkten Sonnenbestrahlung

schützen sollten. Nach dem üblichen Halbieren der Blätter wurde dann der Assimilationsversuch an einem sonnigen Morgen begonnen; ein Teil der Blätter wurde unmittelbar von der Sonne beschienen, während bei den anderen Blättern die Sonne abgeblendet war. Es bedeuten im folgenden z. B. rot I und rot II verschiedene Blätter an derselben Staude.

22

Belichtung	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Differenz der typ. = 100
Volles Sonnenlicht	grün	50,7712 g	53,6925 g	2,9213 g	100
	rot I	50,0400 g	52,0262 g	1,9862 g	74,7
	rot II	47,8122 g	50,1888 g	2,3766 g	
Abgeblendetes Sonnenlicht	grün	53,8150 g	55,4400 g	1,6250 g	55,6
	rot I	53,4125 g	54,0750 g	0,6625 g	21,1
	rot II	50,4766 g	51,0477 g	0,5711 g	

Dieser Versuch lehrt, daß

1. die rote Varietät auch in der Sonne schwächer assimiliert als die normalgrüne Staude;

2. dann, wenn die Sonne abgeblendet ist, die grüne Pflanze viel weniger stark in ihrer Assimilationstätigkeit behindert wird, als die rotblättrige. Das Anthocyan setzt also, wie ich schon früher (Bluthasel S. 264) erwähnte, im Vergleich zur normalgrünen Staude bei geringer Beleuchtung die Assimilation stärker herab als in der Sonne.

XI. Acer dasycarpum und Acer dasycarpum lutescens.

Die Varietät *lutescens* besitzt hellgrüne Blätter. Es wurde mit diesen Pflanzen nur ein Assimilationsversuch am 21. Juni 1911 bei schönstem Wetter angestellt; die benutzten Blatthälften blieben beim Versuch an den beiden Bäumen sitzen.

23

Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Differenz der typica = 100
typicum	57,7657 g	61,5014 g	3,7357 g	100
lutescens	37,0117 g	39,4218 g	2,4101 g	64,5

Es assimiliert also die normalgrüne Stammform besser als die gelbgrüne Varietät.

XII. Acer Pseudoplatanus und verschiedene Varietäten.

Versuche mit *Acer Pseudoplatanus* wurden in großer Zahl ausgeführt, da mir viele Varietäten zur Verfügung standen. Von einigen Bäumen wurde der Chlorophyllgehalt bestimmt. In der folgenden Tabelle sind die dabei gefundenen Zahlen und ein kurzes Charakteristikum der einzelnen Varietäten angegeben.

Varietät	Charakteristicum	25 Plättchen wiegen frisch	Chlorophyllmenge im Alkoholextrakt
typicum	normalgrün	0,2064 g	100
metallicum	glänzende Oberseite, sonst normal	0,2456 g	91,3
euchlorum	Unterseite hellgrün	—	—
cupreum	im ganzen etwas hellere Blätter	0,2430 g	88,2
lutescens	eine „chlorina"	0,2436 g	52,1
luteovirescens	hell- und dunkelgrün gescheckt	—	—
purpureum	Unterseite weinrot	0,3208 g	81,1
atropurp.	Unterseite tiefrot	—	—

Zu den Assimilationsversuchen wurden stets abgeschnittene und in Wasser gestellte Triebe benutzt. Der erste Versuch fand statt am 26. Mai 1911 bei sonnigem, windigem Wetter, der zweite am 29. Mai bei schönstem Wetter, der dritte am 30. Mai bei bedecktem Himmel, der vierte bei schwach bedecktem Wetter am 16. Juni, der fünfte am 28. Juni 1911 bei Sonnenschein, der sechste am 23. Juli 1911 bei schönem Wetter, der siebente am 3. und 4. Juli mit Regen am Nachmittag des 3. Juli; am 4. Juli war meist heiteres Wetter; der achte Versuch war am 10. August und der neunte und letzte am 11. September 1911. Bei den beiden letzten Versuchen war schönstes Sonnenwetter. Es ergaben sich die folgenden Zahlen:

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Durchschnittswerte, je 1 Varietät = 100
I. Versuch 8 h. a. — 3 h. p.	cupreum	31,8234 g	34,4345 g	2,6111 g	100
	atropurp.	38,2903 g	40,5342 g	2,2439 g	89,3
II. Versuch 8 h. a. — 4³⁰ h. p.	typicum	46,4748 g	49,6143 g	3,1395 g	100
	euchlorum	27,6458 g	30,9316 g	3,2858 g	104,6
III. Versuch 8 h. a. — 5 h. p.	lutescens	35,7664 g	37,4236 g	1,6572 g	100
	purpureum	49,7541 g	51,3333 g	1,5792 g	95,1
	atropurp.	44,2971 g	44,9468 g	0,6497 g	39,1

	Varietät	1 m² wiegt morgens	1 m² wiegt abends	Differenz	Durchschnittswerte je 1 Varietät = 100
IV. Versuch 8 h. a. — 5 h. p.	lutescens	45,0422 g	48,8866 g	3,8444 g	86,0
	luteoviresc.	52,9771 g	54,1150 g	1,1379 g	25,4
	euchlorum	49,9195 g	54,3878 g	4,4683 g	100
	metallicum	44,2148 g	48,7590 g	4,5442 g	101,6
	purpureum	60,0549 g	63,0900 g	3,0351 g	67,6
V. Versuch 10 h. a. — 3¹⁵ h. p.	typicum	61,9071 g	63,5419 g	1,6348 g	100
	lutescens	44,4600 g	45,3850 g	0,9250 g	56,7
	luteoviresc.	56,3350 g	56,8475 g	0,5125 g	31,5
	atropurp.	58,6650 g	60,1530 g	1,4880 g	91,3
VI. Versuch 9 h. a. — 4 h. p.	lutescens	32,0700 g	33,2970 g	1,2270 g	36,4
	luteoviresc.	33,5362 g	34,4115 g	0,8753 g	26,0
	atropurp.				
	Trieb I	38,4492 g	41,3360 g	2,8868 g	84,9
	Trieb II	41,2430 g	44,0710 g	2,8280 g	
	purpureum	34,1700 g	37,5400 g	3,3700 g	100
VII. Versuch	typicum	74,9983 g	78,6740 g	3,6757 g	100
	luteoviresc.	56,2150 g	59,0362 g	2,8212 g	76,9
	euchlorum	50,0289 g	54,9950 g	4,9661 g	135,8
VIII. Versuch 6³⁰ h. a. — 12 h. m.	atropurp.				
	Trieb I	41,7170 g	43,4633 g	1,7463 g	87,7
	Trieb II	41,6570 g	43,6466 g	1,9896 g	
	lutescens				
	Trieb I	29,2263 g	30,2614 g	1,0351 g	48,2
	Trieb II	28,6933 g	29,7127 g	1,0194 g	
	cupreum	38,4592 g	40,5882 g	2,1290 g	100
IX. Versuch 9 h. a. — 3 h. p.	typicum				
	Trieb I	59,9914 g	63,8028 g	3,8114 g	
	Trieb II	61,5271 g	65,1104 g	3,5833 g	100
	Trieb III	62,5757 g	65,7957 g	3,2200 g	
	atropurp.	54,6062 g	57,5425 g	2,9363 g	82,9
	cupreum	48,7011 g	52,1237 g	3,4226 g	93,8
	lutescens	55,9725 g	57,2028 g	1,2303 g	34,7

Eine Zusammenstellung der Resultate aus allen Versuchen ergibt die folgenden Durchschnittswerte, auf je 1 Var. = 100 bezogen:

Versuchsfolge	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Versuchstag	26. V.	29. V.	30. V.	16. VI.	28. VI.	23. VII.	3. u. 4. VII.	10. VII.	11. XI.
Wetter	sonnig	sonnig	bedeckt	wenig bedeckt	sonnig	sonnig	meist heiter	sonnig	sonnig
typicum		100			100		100		100
euchlorum		104,6		100			135,8		
cupreum	100							100	93,8
metallicum				101,4					
luteovirescens				25,4	31,5	26,0	76,9		
lutescens			100	86,0	56,7	36,4		48,2	34,7
purpureum			95,1	67,6		100			
atropurpureum	89,3		39,1		91,3	84,9		87,7	82,9

Die Versuche zeigen in ihren Ergebnissen große Schwankungen. Manche stimmen recht gut überein, wie die Verhältnisse zwischen *cupreum* und *atropurpureum* im I., VIII. und IX. Versuch, *lutescens* und *atropurpureum* im VI. und IX. Versuch. Andere zeigen starke Abweichungen. Aber es ist daraus doch zu erkennen, daß das Anthocyan in der früher schon erwähnten Weise seinen Einfluß als ein Lichtschirm geltend macht; bei bedecktem Wetter findet man relativ kleine Werte für die anthocyanhaltigen Varietäten; bei vollem Sonnenschein ist ihre assimilatorische Leistung größer. *Cupreum* und *metallicum*, die sich im Chlorophyllgehalt dem *typicum* nähern, schwanken mit ihren relativen Assimilationswerten um die Werte von *typicum*. Die hellgrüne Varietät *lutescens* bildet weniger Kohlehydrate als die Stammform; auffallend ist die starke Assimilationstätigkeit bei bedecktem Wetter (IV. Versuch). Das starke Schwanken der gescheckten Varietät *luteovirescens* endlich ist leicht verständlich, da auch die Blätter große Verschiedenheit aufweisen in der Marmorierung; beim IV., V. und VI. Versuch waren sehr viele, beim VII. Versuch nur wenige hellgrüne Flecken auf normalgrünem Grund.

Mit Blättern der Stammform und einiger Varietäten wurden nun auch Atmungsversuche ausgeführt. Von *A. P. typicum* wurden zum ersten Versuch 24 Blätter, von 17 g Frischgewicht, dann 17 Blätter vom selben Baum, die 20 g wogen, ferner 18 Blätter eines anderen *typicum*-Baumes, die 16,1 g wogen, dann 13 Blätter *luteovirescens* von 12 g, von demselben 24 Blätter von 17 g, von *lutescens* 18 Blätter, die 16 g wogen, von *atropurpureum* 20 Blätter von 31,5, von *cupreum* 24 Blätter von 27,8 und endlich von *fol. purpureis* 22 Blätter von 33,8 g Frischgewicht. Es ergibt sich dann folgendes (siehe Tabelle S. 293).

Diese Versuche ergaben die stärkste Atmung für die normalgrüne Stammform; alle Varietäten atmen schwächer, am schwächsten die chlorophyllärmste *lutescens*; auch die anthocyanreiche Varietät *atropurpureum* atmet weniger, die weniger anthocyanhaltige *purpureum* dagegen etwas mehr, sodaß auch hier eine stufenweise Abnahme der Atmungsgröße mit dem Chlorophyllgehalt und mit der Zunahme des Anthocyangehaltes deutlich zu erkennen ist.

XIII. Aesculus Hippocastanum.

Im folgenden sind die Resultate von Atmungsversuchen mit Blättern eines *Aesculus Hippocastanum* aus dem hiesigen botanischen Garten ausgeführt. Dieser Baum trug in seiner ganzen Krone normalgrüne Blätter; am unteren Teile des Stammes aber, ca. 2 m über dem

25

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO_1-Menge	Ausgeatmete CO_1-Menge von typ. = 100
typicum	10,7° C.	8^{52}—11^{46}	66,09 mg	
I. Versuch		11^{46}— 3^{09}	65,35 mg	
		3^{09}— 4^{45}	68,43 mg	
typicum	10,2° C.	9^{35}—11^{52}	64,00 mg	100
II. Versuch		11^{52}— 2^{50}	68,23 mg	
		2^{50}— 4^{10}	66,70 mg	
typicum	12,3° C.	8^{50}—11^{38}	68,37 mg	
andrer Baum		11^{38}— 5^{52}	63,30 mg	
luteoviresc.	9,8° C.	8^{55}—12^{19}	57,21 mg	
I. Versuch		12^{19}— 2^{57}	56,25 mg	84,5
luteoviresc.	10,8° C.	8^{25}—12^{19}	56,11 mg	
II. Versuch		12^{19}— 4^{00}	54,35 mg	
lutescens	16° C.	8^{45}— 1^{04}	44,50 mg	67,5
		1^{04}— 5^{07}	44,88 mg	
atropurpurem	15,8° C.	8^{57}—12^{12}	46,23 mg	
		12^{12}— 3^{28}	45,58 mg	68,4
		3^{28}— 5^{24}	44,14 mg	
cupreum	16° C.	9^{32}—11^{38}	49,78 mg	
		11^{38}— 3^{05}	46,32 mg	72,6
		3^{05}— 4^{47}	48,22 mg	
fol. purpureis	15,8° C.	8^{57}—11^{11}	48,67 mg	74,2
		11^{11}— 1^{00}	50,48 mg	

Boden waren eine große Menge von kurzen Trieben mit auffallend hellgelben, fast weißen Blättern, die höchstens vereinzelte kleine grüne Flecken aufwiesen, ausgetrieben. Es wurden Atmungsversuche mit den normalgrünen und den weißen Blättern angestellt.

Beim ersten Atmungsversuch mit den grünen Blättern wurden 30 g Blätter, beim zweiten 10 g Blätter in den Rezipienten des

26

Varietät	Temperatur	Versuchsdauer	CO_2-Menge	Ausgeatmete CO_2-Menge der grün. Bl. = 100
grüne Blätter	11,8° C.	8^{35}—10^{35}	97,37 mg	
I. Versuch		10^{35}—12^{35}	97,03 mg	
		12^{35}—2^{35}	97,18 mg	100
		2^{35}—4^{35}	97,18 mg	
grüne Blätter	9,8° C.	8^{25}—9^{55}	97,00 mg	
II. Versuch		9^{55}—12^{30}	94,04 mg	
weiße Blätter	12,0° C.	9^{05}—11^{05}	51,89 mg	
I. Versuch		11^{05}—1^{05}	51,89 mg	
		1^{05}—3^{05}	48,96 mg	
		3^{05}—5^{05}	49,92 mg	54,9
weiße Blätter	9,2° C.	8^{55}—10^{55}	58,10 mg	
II. Versuch		10^{55}—12^{55}	57,18 mg	

Atmungsapparates gebracht. Zu den Versuchen mit den weißblättrigen Trieben wurden beim ersten Mal 24 g Blätter, beim zweiten Mal 25 g Blätter gebraucht.

Diese Versuche ergeben übereinstimmend die Verschiedenheit der Atmung der grünen und der gelbweißen Blätter des *Aesculus*; dieser Unterschied beträgt 45,1% zu ungunsten der gelbweißblättrigen Triebe, und ist sehr auffällig.

XIV. Catalpa.

Die benutzten Pflanzen standen im Versuchsfeld als 2 m hohe Sträucher nebeneinander. Es waren *Catalpa Kaempferi*, mit normalgrünen Blättern, *Catalpa Kaempferi atropurpurea*, deren junge Triebe dunkelrot waren; später, wenn die Blätter ausgewachsen waren, verlor sich die rote Farbe vollständig; ferner *Catalpa bignonioides Koehnei*, deren Blätter einen breiten gelben Rand, aber ein normalgrünes Mittelfeld hatten, und endlich *Catalpa bignonioides aurea* mit hellgrünen (richtig *chlorina*) Blättern.

Die Chlorophyllbestimmungen wurden in gewohnter Weise ausgeführt und ergaben die folgenden Werte:

Varietät	Frischgewicht von 25 Plättchen	Clorophyllmenge im Alkoholextrakt
Catalpa Kaempferi	0,2462 g	100
C. Kaempf. atropurp.	0,3074 g	128
big. aurea	0,2268 g	50,2
big. Koehnei	0,2643 g	

Der erste Assimilationsversuch fand statt am 17. Juni 1911 bei heiterem, windigem Wetter, der zweite am 28. Juli 1911 bei Sonnenwetter; die Blätter der *atropurpurea* zeigten keine Rotfärbung mehr, da sie ausgewachsen waren. (S. Tab. nächste Seite.)

Diese Versuche mit *Catalpa* zeigen wiederum die Abhängigkeit der Assimilation vom Chlorophyllgehalt. Die am meisten Chlorophyll enthaltende *atropurpurea* assimiliert am stärksten, die chlorophyllärmste *aurea* ergibt in beiden Versuchen vorzüglich übereinstimmende niedrige Werte. Dazwischen liegen die Zahlen für die normalgrüne und die teils gelb, teils grün gefärbte Varietät. Die Atmungsversuche wurden mit Blättern der verschiedenen Varietäten ausgeführt, und zwar wogen die zwölf Blätter der *Kaempferi* 45,1 g, die 12 der *atropurpurea*

27

	Varietät	1 m² wiegt morgens	abends	Differenz	Differenz der Kaempferi = 100
I. Versuch 7^{30} h. a. — 5 h. p.	Kaempferi	45,0630 g	48,7757 g	3,7127 g	100
	atropurp.	35,7100 g	40,6864 g	4,9764 g	134,1
	aurea	29,1233 g	30,3635 g	1,2402 g	33,4
	Kaempferi				
	Trieb I	58,4314 g	62,3029 g	3,8715 g	100
	Trieb II	67,9357 g	71,8083 g	3,8726 g	
	atropurp.				
	Trieb I	37,8752 g	42,2340 g	4,3588 g	119,8
	Trieb II	49,6666 g	54,4725 g	4,8059 g	
	Trieb III	40,2873 g	45,0266 g	4,7393 g	
	Koehnei				
	Trieb I	47,2548 g	49,0455 g	1,7907 g	40,9
	Trieb II	44,9790 g	46,6400 g	1,6610 g	
	Trieb III	53,8550 g	55,2150 g	1,3600 g	
	aurea				
	Trieb I	31,0842 g	32,5029 g	1,4187 g	34,2
	Trieb II	35,5317 g	36,7623 g	1,2306 g	

34,8 g, die 12 der *aurea* 31 g und endlich die 12 Blätter der *variegaten* Form 31,1 g. Es ergab sich:

28

Varietät	Temp.	Versuchszeit	CO^2-Menge	Ausgeatmete CO^2 der Kaempferi = 100
Kaempferi	18° C.	8^{49}—11^{19}	60,01 mg	100
		11^{19}—12^{52}	63,04 mg	
		12^{52}— 3^{45}	58,43 mg	
atropurpurea	17,2° C.	8^{15}—10^{19}	83,25 mg	138,4
		10^{19}—11^{47}	82,76 mg	
		11^{47}— 1^{00}	85,15 mg	
Koehnei	14° C.	8^{16}—10^{14}	50,18 mg	82,0
		10^{14}—12^{14}	49,76 mg	
		12^{14}— 3^{14}	48,95 mg	
aurea	14° C.	8^{46}—10^{46}	36,35 mg	58,8
		10^{46}— 1^{30}	33,86 mg	
		1^{30}— 3^{06}	36,42 mg	

Diese Versuche zeigen in schöner Reihenfolge die Abnahme der Atmungsintensität mit der Chlorophyllkonzentration, nur fällt auf, daß bei *Koehnei,* verglichen mit *aurea,* die Atmung weniger abgenommen hat, als die Assimilationstätigkeit.

Ergebnisse.

1. Die Chlorophyllbestimmungen ergaben stets für dieselbe Fläche einen geringeren Chlorophyllgehalt der hellgrünen Varietäten; diese enthalten meist weniger als die Hälfte der Chlorophyllmengen der Stammformen. Die Extreme liegen bei *Ulmus,* dessen *aurea*-Varietät $\frac{27,7}{100}$ vom Chlorophyllgehalt der *typica* besitzt und bei *Ptelea,* bei der in der *aurea*-Pflanze $\frac{53,4}{100}$ von dem Chlorophyll der Stamm form gebildet ist. Bei den anderen Varietäten liegen die Zahlen für die relativen Chlorophyllmengen in den hellgrünen Formen zwischen diesen Extremen; z. B. ergibt *Mirabilis Jalapa chlorina* $\frac{32,4}{100}$, *Atriplex* $\frac{35,26}{100}$, *Tropaeolum* $\frac{39,2}{100}$, *Populus* $\frac{45,2}{100}$, *Catalpa* $\frac{50,2}{100}$ und endlich *Acer lutescens* $\frac{52,1}{100}$.

2. Mit der Chlorophyllkonzentration nimmt auch die CO_2-Assimilation der hellgrünen Varietäten ab. Sehr gering ist die CO_2-Assimilation bei *Catalpa aurea;* sie beträgt dort $\frac{34,2}{100}$ von der der normalen Pflanze. Denselben Durchschnittswert gibt *Fagus Zlatia.* Es folgen dann *Mirabilis* mit $\frac{38,2}{100}$, *Populus* mit $\frac{41,2}{100}$, *Ulmus* mit $\frac{45,1}{100}$, *Ptelea* mit $\frac{47,5}{100}$, *Atriplex* mit $\frac{58,2}{100}$ und endlich als Maximum *Tropaeolum* mit $\frac{59,5}{100}$ als Durchschnittsassimilationswerte der *chlorina*-Pflanzen. Es bilden also viele hellgrüne Varietäten auf dieselbe Blattfläche im Durchschnitt weniger als die Hälfte der Kohlehydrate der Stammformen. In manchen Fällen (*Mirabilis, Populus, Ptelea*) ist ein ungefähres Parallelgehen der Assimilation mit dem Chlorophyllgehalt zu erkennen. In anderen Fällen dagegen (*Ulmus, Tropaeolum, Atriplex*) assimiliert die hellgrüne Varietät bedeutend stärker, als dem Chlorophyllgehalte entspricht. In solchen Fällen werden die Pflanzen besondere Einrichtungen haben müssen, um die höhere CO_2-Zerlegung leisten zu können. Vielleicht arbeitet das plasmatische Stroma spezifisch intensiver, oder es steht, wie bei *Mirabilis* gezeigt, den *chlorina*-Formen in einer größeren Menge Spaltöffnungen ein Hilfsmittel zur Erhöhung der Assimilationsleistung zu Gebote. Bei *Catalpa* hat dagegen die Varietät *aurea* einen kleineren Assimilationswert, als ihr nach dem Chlorophyllgehalt zukommen mußte. Worauf diese Abweichung beruht, ist schwer zu sagen. Vielleicht ist eine besondere Lagerung der Chlorophyllkörner oder eine trotz der nahen Verwandtschaft differente Beschaffenheit der plasmatischen Grundsubstanz der Chloroplasten vorhanden.

Bei den variegaten Sippen, die mehr oder weniger viele hellgrüne Flecken und Streifen auf normalgrünem Grunde zeigten,

schwankte die Assimilationstätigkeit sehr stark mit der Marmorierung (*Acer Pseud. luteovirescens*); sie liegt aber immer, wie begreiflich, zwischen den Werten für die Kohlehydratbildung der normalgrünen und der gleichmäßig hellgrünen Varietät (*Mirabilis, Fagus, Catalpa*).

3. Alle Versuche zeigen nun auch eine geringere Atmung der hellgrünen Sippen. Die geringste relative Atmungstätigkeit findet sich bei *Catalpa aurea;* hier sind es $\frac{58,8}{100}$ von der Atmungstätigkeit der normalgrünen Stammformen. Die anderen Objekte ergaben: *Acer lutescens* $\frac{67.5}{100}$, *Mirabilis* $\frac{76.1}{100}$, *Atriplex* $\frac{80,47}{100}$, *Ptelea* $\frac{84,1}{100}$, *Populus* $\frac{89,54}{100}$ und *Ulmus* $\frac{91.21}{100}$. Daraus ist keine direkte Parallelität mit dem Chlorophyllgehalt zu erkennen; denn die am wenigsten Chlorophyll haltige *Ulmus aurea* atmet relativ am stärksten. Dagegen scheint in etwas eine Beziehung zu bestehen zwischen Atmung und Assimilation; der Quotient der relativen Atmungs- und Assimilationswerte der blaßgrünen Sippen ist bei *Ptelea* $\frac{84.1}{47.5} = 1{,}77$, bei *Catalpa* $\frac{58.8}{34.2} = 1{,}72$, bei *Mirabilis* 2,0, bei *Ulmus* 2,0, bei *Populus* 2,1; relativ klein ist dagegen der Quotient bei *Atiplex*; er ist dort 1,3.

Der Atmungsversuch mit *Aesculus* ergab einen relativen Atmungswert der fast weißen Blätter von $\frac{54,9}{100}$ in bezug auf die normalgrünen Blätter desselben Baumes.

4. Es zeigen also die Versuche ein schwächeres Assimilieren der hellgrünen Blätter; ein Stück dieses Nachteils wird aber kompensiert durch die ebenfalls geringere Atmungstätigkeit. Am günstigsten steht in dieser Beziehung *Atriplex,* da der Quotient aus Atmungs- und Assimilationswert am nächsten bei 1 liegt; am schlechtesten ist das Verhältnis bei *Populus,* bei der der Quotient 2,1 beträgt. Die Messungen bei *Mirabilis* ergaben aber nun ferner, daß der *chlorina* durch Ausbildung einer relativ größeren Blattfläche im Verhältnis zum Gesamtgewicht eine Möglichkeit zur Steigerung der Kohlehydratbildung gegeben ist, und als Folge zeigt sich, daß die *chlorina,* trotzdem sie nur $\frac{38.2}{100}$ von der Assimilationstätigkeit der normalen Pflanze ausübt, von der Höhe $\frac{86.05}{100}$ und vom Frischgewicht $\frac{65,7}{100}$ der entsprechenden Werte der *typica* erreicht.

5. Die Chlorophyllbestimmungen der rotblättrigen Pflanzen ergaben teils höhere (*Ulmus* $\frac{125,5}{100}$), teils niedrigere (*Atriplex* $\frac{54}{100}$, *Acer purpureum* $\frac{81.1}{100}$) Chlorophyllmengen in derselben Blattfläche. Daraus geht hervor, daß keine Korrelation besteht zwischen Chlorophyll- und

Anthocyangehalt. Immer blieben aber die Assimilationswerte hinter den für die normalen Stammpflanzen gefundenen Zahlen zurück. Die in den verschiedenen Versuchen gefundenen Ergebnisse zeigen aber große Schwankungen untereinander dadurch, daß die Lichtintensität einen deutlich erkennbaren Einfluß ausübt. Bei bedecktem Himmel findet man nämlich für die rotblättrigen Varietäten immer relativ viel kleinere Werte als bei direktem Sonnenlicht. Das erklärt sich wohl daraus, daß das Anthocyan einen Lichtschirm darstellt, dessen Wirkung erst von einer gewissen Lichtintensität an zurückzutreten anfängt. An einem Versuch mit einer grünen und einer rotblättrigen Ricinusstaude wurde gezeigt, daß bei abgeblendeter Sonne unter sonst gleichen Bedingungen die rotblättrige Form weit mehr in der Assimilation benachteiligt wird, als die grünblättrige. Zum Vergleich assimilierten einige Blätter derselben Stauden in vollem Sonnenlicht; bei ihnen war die Differenz lange nicht so bedeutend.

Bei *Catalpa* verlor die in der Jugend rot gefärbte *atropurpurea* späterhin, wenn die Blätter ausgewachsen waren, das Anthocyan vollständig. Die Chlorophyllbestimmung ergab dann bei den ausgewachsenen Blättern der *atropurpurea*-Varietät einen größeren Chlorophyllgehalt als bei den Blättern der normalen grünen Pflanze. Die Blätter dieser Varietät ergaben auch einen größeren Assimilations- und Atmungswert als die der Stammpflanze.

6. Auch die rotblättrigen Varietäten ließen eine Herabsetzung der Atmungstätigkeit erkennen. Am bedeutendsten ist diese Herabsetzung bei *Atriplex hortensis atropurpurea;* diese atmet nur $\frac{82{,}98}{100}$ so stark wie die normalgrüne *Atriplex.* Die anderen Pflanzen ergaben höhere Werte; so die Bluthasel $\frac{83{,}78}{100}$, die Blutulme $\frac{94{,}31}{100}$ und die Blutbuche $\frac{97{,}36}{100}$. Bildet man hier wieder den Quotienten zwischen den höchsten Assimilationswerten und der Atmungsintensität, so findet man bei *Atriplex* $\frac{82{,}98}{84{,}04} = 0{,}99$, bei *Ulmus* 1,2, bei *Fagus* 1,2 und bei *Corylus* 1,8. Das zeigt, daß, mit Ausnahme der Bluthasel, bei den anderen rotblättrigen Varietäten im Verhältnis ungefähr die Assimilations- und Atmungswerte gleich abgenommen haben.

Aus allen Ergebnissen folgt also die schwächere Assimilationstätigkeit der hellgrünen Varietäten in bezug auf die Stammpflanze; in keinem Falle wurde eine Abweichung von dieser Regel gefunden. Auch die Blätter der anthocyanhaltigen Pflanzen assimilieren immer weniger als die der normalgrünen Formen und dieser Unterschied wird gesteigert bei bedecktem Wetter. Die hellgrünen und die hantocyanhaltigen Blätter machen aber einen Teil des durch die ver-

minderte Assimilation erlittenen Nachteils durch eine schwächere Atmung wieder gut. Wie bei *Mirabilis* gezeigt wurde, hat die hellgrüne Sippe auch durch Ausbildung einer relativ größeren Blattoberfläche einen gewissen Vorteil der Stammpflanze gegenüber.

Nachtrag.

Bei den vorher angeführten Aschenanalysen ergaben sich folgende absolute Zahlen:

Ulmus (S. 266).

	typica	aurea
Trockensubstanz	6,91 g	7,80 g
Rohasche	1,73 g	2,04 g

Die Rohasche wird in Königswasser gelöst, der Rückstand durch ein vorher bei 105° C. getrocknetes und darauf gewogenes Filter abfiltriert und die Lösung auf 300 cm³ verdünnt. Das Filter wird mit dem Rückstand wiederum bei derselben Temperatur getrocknet und dann gewogen. Der in Königswasser ungelöste Rückstand besteht aus Sand, amorpher SiO_2 und unverbrannter Kohle. Durch Veraschen des Filters mit dem Rückstand im Platintiegel vor dem Gebläse bleibt nur Sand + amorphe SiO_2 zurück. Die Bestimmung ergab:

	typica	aurea
Getr. Filter + Sand + SiO_2 + Kohle	0,5219 g	0,5142 g
Getr. Filter allein	0,5002 g	0,4841 g
Sand + SiO_2 + Kohle	0,0217 g	0,0301 g

	typica	aurea
Platintiegel + Sand + SiO_2	12,6214 g	12,6287 g
Platintiegel allein	12,6031 g	12,6022 g
Sand + SiO_2	0,0183 g	0,0265 g
Unverbrannte Kohle	0,0034 g	0,0036 g
Reinasche	1,7083 g	2,0099 g

SO_4 Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica	aurea
Platintiegel + $BaSO_4$	12,7387 g	12,7490 g
Platintiegel allein	12,6028 g	12,6039 g
$BaSO_4$	0,1359 g	0,1451 g

In der *typica*-Reinasche sind **0,1679 g**, in der *aurea*-Reinasche **0,1792 g** SO_4.

PO_4 Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica	aurea
Platintiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,6607 g	12,6573 g
Platintiegel allein	12,6030 g	12,6027 g
$Mg_2P_2O_7$	0,0577 g	0,0546 g

In der *typica*-Reinasche sind **0,0737 g**, in der *aurea*-Reinasche **0,0698 g** PO_4.

Fe_2O_3, CaO und MgO Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica	aurea
Platintiegel + $\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	12,6673 g	12,6701 g
Platintiegel allein	12,6031 g	12,6030 g
$\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	0,0642 g	0,0671 g
Platintiegel + CaO	12,7238 g	12,7390 g
Platintiegel allein	12,6030 g	12,6020 g
CaO	0,1208 g	0,1370 g

	typica	aurea
Platintiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,7152 g	12,7199 g
Platintiegel allein	12,6028 g	12,6029 g
$Mg_2P_2O_7$ =	0,1124 g	0,1170 g

Also sind in der *typica* Reinasche 0,0207 g Fe_2O_3, 0,3624 g CaO und 0,0737 g MgO und in der *aurea* Reinasche 0,0216 g Fe_2O_3 0,4110 g CaO und 0,0766 g MgO.

Atriplex (S. 269).

	typica	chlorina
Trockensubstanz	39,0050 g	9,2099 g
Rohasche	4,0648 g	1,0536 g

Von der *typica*-Asche wurden zwei ungefähr gleiche Mengen zu zwei verschiedenen Bestimmungen benutzt zur Prüfung der Genauigkeit der Resultate. Dabei ergab sich:

	typica		chlorina
	I. Best.	II. Best.	
Benutzte Rohasche	2,0895 g	1,9103 g	0,9554 g
Getr. Filter + Sand + SiO_2 + Kohle	0,3390 g	0,3730 g	0,3800 g
Getr. Filter	0,2699 g	0,3048 g	0,3472 g
Sand + SiO_2 + Kohle	0,0691 g	0,0682 g	0,0328 g

	typica		chlorina
	I. Best.	II. Best.	
Platintiegel + Sand + SiO_2	12,6474 g	12,6449 g	12,6197 g
Platintiegel allein	12,5944 g	12,5948 g	12,5984 g
Sand + SiO_2	0,0530 g	0,0501 g	0,0213 g
Unverbrannte Kohle	0,0161 g	0,0181 g	0,0115 g
Reinasche	2,0204 g	1,8421 g	0,9226 g

SO_4 Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica		chlorina
	I. Best.	II. Best.	
Tiegel + $BaSO_4$	12,7562 g	12,7369 g	12,6612 g
Tiegel allein	12,6014 g	12,5966 g	12,6030 g
$BaSO_4$	0,1548 g	0,1403 g	0,0582 g

PO_4 Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica I. Best.	typica II. Best.	chlorina
Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,7135 g	12,7049 g	12,6526 g
Tiegel allein	12,6002 g	12,6028 g	12,6031 g
$Mg_2P_2O_7$	0,1133 g	0,1021 g	0,0495 g

Fe_2O_3, CaO und MgO Best. in 100 cm³ Lösung.

	typica I. Best.	typica II. Best.	chlorina
Tiegel + $\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	12,6126 g	12,6102 g	12,6087 g
Tiegel allein	12,6010 g	12,6004 g	12,6032 g
$\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	0,0116 g	0,0098 g	0,0055 g
Tiegel + CaO	12,7090 g	12,7021 g	12,6472 g
Tiegel allein	12,5936 g	12,5966 g	12,6028 g
CaO	0,1154 g	0,1055 g	0,0444 g
Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,6700 g	12,6746 g	12,6298 g
Tiegel allein	12,5950 g	12,6052 g	12,6021 g
$Mg_2P_2O_7$	0,0750 g	0,0694 g	0,0277 g

Mirabilis (S. 272).

	typica I. Pflanze	typica II. Pflanze	typica III. Pflanze
Trockensubstanz	71,8433 g	49,1262 g	28,7142 g
Rohasche	11,3833 g	8,4367 g	4,8498 g

Es wurde mit einer bestimmten Menge Rohasche die weiteren Wägungen ausgeführt.

Von der ersten Pflanze waren 8,5822 g Rohasche in 580,5 cm³, von der II. 2,7825 g in 345 cm³ und von der III. 2,1668 g in 300 cm³ verd. HCl gelöst. Es war dann:

	I. Pflanze	II. Pflanze	III. Pflanze
Getr. Filter + Sand + SiO_2 + Kohle	1,2589 g	0,4046 g	0,3145 g
Getr. Filter	0,5219 g	0,2784 g	0,2347 g
Sand + SiO_2 + Kohle	0,7370 g	0,1262 g	0,0798 g
Platintiegel + Sand + SiO_2	13,0884 g	12,7211 g	12,6746 g
Platintiegel	12,6018 g	12,6000 g	12,5972 g
Sand + SiO_2	0,4866 g	0,1211 g	0,0774 g
Unverbrannte Kohle	0,2504 g	0,0051 g	0,0024 g
Reinasche	**7,8452 g**	**2,6563 g**	**2,0870 g**

SO_4 Best. bei I. in 180,5 cm³, bei II. in 115 cm³ und bei III. in 100 cm³ Lösung.

	I.	II.	III.
Tiegel + $BaSO_4$	13,0938 g	12,7435 g	12,7065 g
Platintiegel $BaSO_4$	12,8084 g	12,6015 g	12,5966 g
$BaSO_4$	0,2854 g	0,1420 g	0,1099 g

PO_4 Best. bei I. in 150 cm³, bei II. in 115 cm³ und bei III. in 100 cm³ Lösung.

Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,7839 g	12,6752 g	12,6588 g
Tiegel	12,6000 g	12,5989 g	12,5980 g
$Mg_2P_2O_7$	0,1839 g	0,0763 g	0,0608 g

Fe_2O_3, CaO und MgO Best. bei I. 135 cm³, bei II. in 115 cm³ und bei III. in 100 g Lösung.

Tiegel + $\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	12,8148 g	12,7136 g	12,6823 g
Tiegel	12,6022 g	12,6010 g	12,5962 g
$\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	0,2126 g	0,1126 g	0,0861 g
Tiegel + CaO	13,1988 g	13,0662 g	12,9802 g
Tiegel	12,6030 g	12,6008 g	12,6098 g
CaO	0,5958 g	0,4654 g	0,3704 g
Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,7098 g	12,6750 g	12,6458 g
Tiegel	12,6000 g	12,6052 g	12,5963 g
$Mg_2P_2O_7$	0,1098 g	0,0698 g	0,0495 g

Ebenso wurde mit einem bestimmten Teile der Asche von drei *chlorina*-Pflanzen verfahren. Dabei ergab sich:

	I. Pflanze	II. Pflanze	III. Pflanze
Trockensubstanz	42,4633 g	36,5591 g	37,8564 g
Rohasche	8,7856 g	6,5813 g	7,7324 g

Von der I. Pflanze wurden 5,3772 g Rohasche in 525 cm³, von der II. 3,9732 g in 375 cm³ und von der III. Pflanze 2,9233 g in 360 cm³ verd. HCl gelöst.

	I. Pflanze	II. Pflanze	III. Pflanze
Getr. Filter + Sand + SiO_2 + Kohle	0,9398 g	0,5368 g	0,5047 g
Getr. Filter	0,5388 g	0,2741 g	0,3444 g
Sand + SiO_2 + Kohle	0,4010 g	0,2627 g	0,1603 g
Tiegel + Sand + SiO_2	12,9794 g	12,8318 g	12,7604 g
Tiegel	12,6030 g	12,6010 g	12,6004 g
Sand + SiO_2	0,3764 g	0,2308 g	0,1600 g
Unverbrannte Kohle	0,0246 g	0,0319 g	0,0003 g
Reinasche	**4,9762 g**	**3,7105 g**	**2,7630 g**

SO_4 Best. bei I., II. und III. in ⅓ der ganzen Lösung.

Tiegel + $BaSO_4$	12,8969 g	12,8232 g	12,7664 g
Tiegel	12,6030 g	12,5994 g	12,6000 g
$BaSO_4$	0,2939 g	0,2238 g	0,1664 g

PO_4 Best. wie bei SO_4.

Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,7408 g	12,7096 g	12,6758 g
Tiegel	12,6030 g	12,6020 g	12,6008 g
$Mg_2P_2O_7$	0,1378 g	0,1076 g	0,0750 g

Fe_2O_3, CaO und MgO Best. wie bei SO_4.

Tiegel + $\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	17,6775 g	12,7480 g	12,6962 g
Tiegel	17,5428 g	12,5996 g	12,6007 g
$\left.\begin{matrix}CH_3COO\\(OH)_2\end{matrix}\right\}$ Fe	0,1347 g	0,1484 g	0,0955 g
Tiegel + CaO	13,1746 g	13,0506 g	12,9362 g
Tiegel	12,6030 g	12,6004 g	12,6042 g
CaO	0,5716 g	0,4502 g	0,3320 g
Tiegel + $Mg_2P_2O_7$	12,6622 g	12,6606 g	12,6510 g
Tiegel	12,6012 g	12,6032 g	12,6002 g
$Mg_2P_2O_7$	0,0610 g	0,0574 g	0,0508 g

Es kommen auf 100 g Reinasche also bei

Ulmus

	SO_4	PO_4	Fe_2O_3	CaO	MgO	Auf 100 g Trockengewicht kommt Reinasche
typica	9,82	4,31	1,21	21,20	4,31	25,1
aurea	8,96	3,49	1,08	20,56	3,84	26,1

Atriplex

typica I	9,44	7,20	1,85	17,1	2,01	10,06
II	9,40	7,09	1,71	17,21	2,05	
chlorina	8,78	6,86	1,92	14,44	1,64	11,10

Mirabilis siehe Seite 284.

Literaturverzeichnis.

1. Baur, Untersuchungen über die Erblichkeitsverhältnisse einer nur in Bastardform lebensfähigen Sippe von *Antirrhinum majus.* (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 25, 1907, p. 442.)
2. — Die *aurea*-Sippen von *Antirrhinum majus.* (Zeitschr. i. Abst. u. Vererbungslehre 1, 1908, p. 124.)
3. — Untersuchungen über die Vererbung von Chromatophorenmerkmalen bei *Melandrium, Antirrhinum* und *Aquilegia.* (Zeitschr. i. Abst. u. Vererbungslehre 4, 1910, p. 81.)
4. Bonnier, Recherches physiologiques sur les plantes parasites. (Bull. scient. du nord de la France et de la Belgique t. XXV, 1903.)
5. Correns, Vererbungsversuche mit blaß(gelb)grünen und buntblättrigen Sippen bei *Mirabilis Jalapa, Urtica pilulifera* und *Lunaria annua.* (Zeitschr. i. Abst. u. Vererbungslehre 1, 1908, p. 291.)
6. — Über Bastardierungsversuche mit *Mirabilis*-Sippen. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 21, 1903, p. 142.)
7. Engelmann, Farbe und Assimilation. (Bot. Zeit. 1883, Nr. 1, 2.)
8. Géneau de Lamarlière, Recherches physiologiques sur les feuilles développées à l'ombre et au soleil. (Rev. gén. t. 4, 1892.)
9. Griffon, L'assimilation chlorophyllienne et la coloration des plantes. (Ann. des Sc. nat. Ser. 8a, t. X, 1899.)
10. Jumelle, Sur l'assimilation chlorophyllienne des arbres à feuilles rouges. (C. R. t. 111, p. 380.)
11. Kränzlin, Anatomische und farbstoffanalytische Untersuchungen an panachierten Pflanzen. (Diss. Berlin 1908.)
12. Kreussler, Landwirtschaftl. Jahrbücher 1885—1890.
13. Heinricher, Die grünen Halbschmarotzer. (Jahrb. f. wiss. Bot. 31, 77; 32, 389; 36, 665; 37, 264.)
14. Lubimenko, La concentration de la chlorophylle et l'énergie assimilatrice. (C. R. t. 143, p. 837.)
15. Müller, Arno, Die Assimilation bei Zucker und Stärkeblättern. (Jahrb. f. wiss. Bot. 40.)
16. Nordhausen, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 25, 398.
17. Pfeffer, Über intramolekulare Atmung. (Unters. Tübingen I.)
18. Sachs, Beitrag zur Kenntnis der Ernährungstätigkeit der Blätter. (Würzburger Arbeiten 1884.)

Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen.

I. Mitteilung.

Die Kultur von Algen in Agar.

Von **Ernst G. Pringsheim.**

(Mit Tafel IX und X.)

Einleitung.

Im Anschluß an frühere Untersuchungen über den Stimmungswechsel bei phototropischen Phanerogamenkeimlingen hatte ich die Absicht, ähnliche Fragen bei phototaktischen Mikroorganismen in Angriff zu nehmen. Dabei sollten die Veränderungen der Reizbarkeit nicht nur durch das Licht selbst, sondern auch durch chemische Einflüsse bewirkt werden.

Bald zeigte es sich dabei, daß das durch Zufall in der Natur oder in Rohkulturen gebotene Material für solche Zwecke fast unbrauchbar ist, weil unübersehbare Nebenumstände hineinspielen, die die erstrebte Beherrschung des Materiales in reizphysiologischer Hinsicht unmöglich machen. Selbst noch so üppige und lange sich fortentwickelnde Kulturen ändern ihr Verhalten in exakteren Versuchen schon nach kurzer Zeit, sodaß eigentlich nur am selben oder an aufeinanderfolgenden Tagen angestellte Experimente vergleichbar sind. Diesen Fehlerquellen, den „Launen" des lebenden Materiales auf die Spur zu kommen, sollte aber gerade das Ziel der Untersuchungen sein. Bedingung für das Fortschreiten der Arbeit war daher Beherrschung der Kulturmethodik in dem Grade, daß irgend ein physiologischer Zustand jederzeit wieder hergestellt werden konnte.

Für das Studium chemischer Einflüsse, also in der Hauptsache der Ernährungsbedingungen, war es ferner notwendig, die Gegenwart fremder Organismen auszuschließen, weil deren Stoffwechselprodukte, wie überhaupt die Veränderungen der Nährlösungen durch sie, eine Quelle der gröbsten Störungen bildeten. Es wurde hierbei hauptsächlich an Bakterien und Pilze gedacht. Wie sich aber später zeigte, ist es unter Umständen eben so schwer, Protozoen (Amoeben u. dgl.) fernzuhalten. Jedenfalls konnte ich nur von absoluten Reinkulturen Förderung meiner Bestrebungen erwarten. Von diesen war dann zu

erhoffen, daß die im vorigen Absatz angedeuteten Störungen ausblieben, eine Erwartung, die sich für gewisse Fälle auch bewährt hat.

Zunächst galt es daher, sich nach leicht kultivierbaren Lebewesen umzusehen, am besten solchen, deren Isolierung schon gelungen und über deren Reizbarkeit einiges bekannt ist. Besonders phototaktische Organismen schienen mir Erfolg zu versprechen. Als solche kamen bei der Forderung nach Reinkulturen weniger die Schwärmer höherer Algen in Frage, als die grünen Flagellaten und niederen Volvocineen. Von den ersteren bot sich die von Zumstein[1]) rein kultivierte *Euglena gracilis,* über deren Reizphysiologie Frank[2]) gearbeitet hat, von den letzteren Chlamydomonasarten, über die Frank und Jacobsen[3]) entsprechende Erfahrungen gesammelt haben, als Erfolg verheißend dar.

Meine Versuche begannen vor nunmehr vier Jahren mit *Euglena gracilis.* Die mannigfach variierten Versuche, hiervon nach der Methode von Zumstein Reinkulturen herzustellen, wollten alle nicht glücken. Über diese Experimente, deren Mißlingen früher schon gemeldet wurde[4]), werde ich in einer von den späteren Mitteilungen berichten, die nebst einigem anderen die Physiologie bestimmter, in Reinkultur gewonnener Arten zum Inhalt haben sollen.

Als die Zumsteinsche Methode so versagte, versuchte ich schließlich, mit dem in Rohkulturen weiter gezüchteten Materiale Agarplatten zu gießen. Die ersten Versuche schlugen fehl, weil bei bloßem Nährsalzzusatz zum Agar das Wachstum der Euglenen zu gering war und in Nährböden mit Zumsteinscher Lösung bei höherer Konzentration der Zitronensäure kein Erstarren des Agars zu erzielen war. Bei Agar mit sehr verdünnter Zumsteinscher Lösung wuchsen zwar die Euglenen ganz gut, gleichzeitig aber die verschiedensten Pilze (ebenso wie in Flüssigkeitskulturen nach der Z.schen Methode) so üppig, daß ein reines Abimpfen der Flagellaten nicht möglich war. Erst als ich, ähnlich wie das Molisch[5]) für Purpurbakterien empfohlen hat, den mit dem lebenden Material beschickten Agar im Reagenzglase selbst unter Abkühlung mit Wasser erstarren ließ, be-

---

[1]) H. Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Diss. Basel 1899 u. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., Bd. 34, 1900.

[2]) Th. Frank, Kultur und chemische Reizerscheinungen der *Chlamydomonas tingens.* Botan. Zeitung, Jahrg. LXII. 1904.

[3]) E. Jacobsen, Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. Zeitschrift für Botanik, Bd. II. 1910.

[4]) E. G. Pringsheim, Über die Herstellung von Gelbfiltern usf. Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch., Bd. XXVI a. 1908.

[5]) H. Molisch, Die Purpurbakterien. Jena 1907.

kam ich reine Kolonien der Euglenen, deren Abimpfen aber natürlich mühsam war und nicht ohne Infektion gelang.

Auch diese Schwierigkeit wurde schließlich überwunden, als ich die verschiedensten organischen Zusätze zum Agar durchprobierte und in einem Nährboden, der weiter nichts als 2% Agar-Agar und 0,1% Asparagin enthielt, ein für meine Organismen sehr geeignetes Substrat auffand. Ging man von in Wasser ausgeschlüpften Schwärmern aus, die sich phototaktisch angesammelt hatten, so entwickelten sich nicht allzuviele Bakterien, d. h. deren Kolonien waren klein und ließen genug freie Stellen zwischen sich, um die bei gutem Lichte bald auftauchenden grünen Fleckchen mit der Platinnadel herausholen zu können. Eine Wiederholung des Verfahrens lieferte bakterienfreie Reinkulturen.

Bei diesen Versuchen waren Erfahrungen verschiedener Art gesammelt worden, die die Isolierung weiterer chlorophyllführender Organismen mit Hilfe des Plattengusses von in Agar verteiltem Materiale als hoffnungsvoll erscheinen ließen. Auch waren manchmal schon fremde grüne Kolonien in meinen Euglenenplatten aufgetreten, deren Art zunächst nicht weiter untersucht worden war. Ferner regte mich die Verfolgung der Meinholdschen Arbeit[1]) zur Physiologie der Diatomeen zu erfolgreichen Versuchen an, auch mit diesen Organismen Ausgußplatten zu machen an Stelle der von O. Richter[2]) empfohlenen Methode das lebende Material auf die Oberfläche des erstarrten Substrates zu bringen. Deshalb beschloß ich, zu versuchen, was etwa in solchen Platten von chlorophyllhaltigen Mikroorganismen zu wachsen imstande ist, und ob die Auffassung, die meisten Algen hielten die 40° des verflüssigten Agars nicht aus, nicht vielleicht unrichtig ist.

Der Erfolg bestätigte meine Hoffnungen insoweit, als in meinen Platten sehr verschiedenartige, teilweise als schwer kultivierbar geltende Organismen auftraten, deren Reinkultur allerdings auf die verschiedenartigsten Schwierigkeiten stieß und daher vorläufig nur bei wenigen Formen geglückt ist[3]). Im folgenden will ich daher zunächst meine

---

[1]) Th. Meinhold, Beiträge zur Physiologie der Diatomeen. Cohns Beitr. zur Biologie der Pflanzen, Bd. X. 1911.

[2]) O. Richter, Reinkulturen von Diatomeen. Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXI. 1903. — Zur Physiologie der Diatomeen. Sitzungsber. der kaiserl. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-naturw. Kl., Bd. CXV, Abt. I. 1906.

[3]) Wie ich später fand, ist A. Tischutkin (Über Agar-Agar-Kulturen einiger Algen und Amoeben. Zentralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. III. 1897.) nach seinen Angaben darin glücklicher gewesen. Er gewann durch Plattenguß mit einprozentiger Lösung von Agar in „gewöhnlichem" Wasser Reinkulturen von folgenden Algengattungen: Oscillaria, Tolypothrix, Aphanocapsa, Anacystis, Dia-

allgemeineren Erfahrungen niederlegen, da auch ohne Reinkulturen eine Menge von Beobachtungen und Versuchen möglich sind, und es mich viel zu weit führen würde, alle in meinen Kulturen auftretenden Organismen fortzuzüchten. Im Anschluß daran will ich später in besonderen Mitteilungen über die ausführlicher behandelten Formen, die ich von fremden Lebewesen isolieren konnte, berichten.

Methodik.

Die Methoden, deren ich mich bediente, sind einfach und nicht neu. Die Grundlage bildete das Kochsche Plattenverfahren, das aber für meine Zwecke in Kleinigkeiten modifiziert werden mußte. Verwendet wurden Petrischalen, Reagensgläser usf. von den üblichen Formen.

Als Nährboden wurde 1—2prozentiger Agar-Agar meist nur mit Mineralsalzen angewendet. Nachdem Vergleichsversuche die große Überlegenheit des gewässerten Agars gegenüber dem ungewässerten gezeigt hatten, wurde nur noch der erstere verwendet. Er wurde ungefähr in der von O. Richter[1]) empfohlenen Weise bereitet, nämlich durch mehrere Tage unter der Wasserleitung berieselt und dann noch zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach Zusatz der Salze wurde er im Autoklav bei 2 Atmosphären gelöst und durch entfettete Verbandwatte filtriert. Danach war er fast völlig klar und farblos. Papierfiltration ist sehr langwierig und meist überflüssig.

Als Salzzusatz wurde nur das Notwendigste gegeben, und zwar als Stickstoffquelle 0,1% KNO_3, NH_4NO_3 oder $(NH_4)_2HPO_4$. Letzteres erwies sich von den Ammonsalzen als das geeignetste. Das Ammoniumnitrat wurde nur verwendet, wenn sowohl den Nitrat- wie den Ammon-Algen Gelegenheit zur Entwickelung gegeben werden sollte. In den Bedürfnissen an die Stickstoffquelle zeigten sich große Verschiedenheiten zwischen den verschiedenen Organismen. Saure Phosphate wie überhaupt saure Reaktion wirkten fast überall vernichtend. Auf den Ammonplatten wuchsen mehr Pilze als auf den Nitratnährböden. Diese waren hinderlicher als Bakterien. Neben der Stickstoffquelle

---

toma, Nitzschia, Navicula, Gomphonema, Pleurococcus, Raphidium, Cosmocladium, Protococcus, Scenedesmus, Penium, Closterium, Cosmarium, Oedogonium, Stigeoclonium und einigen nicht bestimmten. Mangels genauerer Angaben möchte ich freilich nach meinen Erfahrungen die absolute Bakterienfreiheit seiner Kulturen bezweifeln. Doch hat er jedenfalls das Verdienst, auf die Möglichkeit des Plattengusses hingewiesen zu haben.

[1]) O. Richter, Die Ernährung der Algen, Leipzig 1911. S. 31.

wurde überall 0,025% Magnesiumsulfat und 0,025% sekundäres Kaliumphosphat gegeben.

Ein vollständiger Algenagar enthielt also auf 1000 ccm dest. W.:

10—20 g gewässerten Agars,
1 g $(NH_4)_2HPO_4$ oder KNO_3 oder NH_4NO_3,
0,25 g $MgSO_4$,
0,25 g K_2HPO_4.

Weitere Zusätze wurden selten gegeben. Ca- oder Fe-Mangel war wohl auch kaum zu befürchten. Organische Nährstoffe wurden meist erst zugesetzt, wenn Reinkulturen erzielt waren.

Mit der Fortzüchtung der auf den Agarplatten oft recht üppig gedeihenden Organismen in Flüssigkeiten hatte ich große Schwierigkeiten. Von Nährlösungen erwies sich ein im Autoklav hergestellter Auszug aus Gartenerde, der noch mit der entsprechenden Stickstoffverbindung versehen wurde, manchmal als sehr günstig. Doch wuchsen viele von den Versuchsobjekten darin nicht und ebensowenig in den verschiedenartigsten Nährsalzgemischen, die auch da, wo sie Vermehrung gestatteten, fast überall nur kümmerliches Gedeihen ergaben. Ich hatte deshalb den Eindruck, daß diese Algen in der Natur irgendwelche organischen Stoffe, vielleicht in minimalen Mengen, zur Verfügung haben, die vielfach durch im Agar vorhandene Substanzen ersetzbar sind. Eine wirkliche Bearbeitung dieser Frage ist natürlich nur mit Reinkulturen möglich, doch glaube ich gewisse Schlüsse auch schon aus den erwähnten Erfahrungen ziehen zu dürfen.

Da der gewässerte Agar ohne besondere Stickstoffquelle kaum irgend welche Vermehrung erlaubte, auch die Art des Stickstoffsalzes, ob Ammon oder Nitrat, von großer Bedeutung war, so kann es sich kaum darum handeln, daß den Algen in anorganischen Nährlösungen etwa eine organische Stickstoffquelle fehlte, die im Agar enthalten wäre. Ganz ausgeschlossen ist diese Möglichkeit freilich nicht, da eventuell neben einer anorganischen Stickstoffverbindung eine organische in sehr kleinen Mengen förderlich sein könnte. Doch kann man diesem Erklärungsversuche nicht viel Wahrscheinlichkeit beimessen, da etwas ähnliches bisher nicht bekannt geworden ist. Wahrscheinlicher, und bei dem Kohlehydratreichtum des Agarnährbodens einleuchtender, ist es wohl, daß die Algen neben der Kohlensäureassimilation irgend welcher organischen Kohlenstoffquellen, vielleicht Zuckerarten, bedürfen, um einigermaßen zu gedeihen. Freilich scheint auch diese Auffassung zunächst paradox, da noch weniger als bei den Stickstoffverbindungen einzusehen ist, warum die fraglichen Organismen sich ihren Bedarf an Kohlehydraten nicht selbst herstellen sollen. Doch muß das bis auf weitere Untersuchungen noch offen bleiben. Von einer sogen. Reizwirkung organischer Stoffe

zu sprechen scheue ich mich deshalb, weil mir dieser Ausdruck nicht viel zu sagen scheint. Er kann höchstens andeuten, daß ein unbekannter Zusammenhang zwischen der Gegenwart eines Stoffes und der Förderung des Wachstums besteht, der durch einfache Verwendung im Bau- oder Betriebsstoffwechsel nicht einleuchtend erklärt werden kann. Aber irgendwie in die chemischen Umsetzungen im Organismus eingreifen muß ja jeder Stoff, der eine Wirkung ausübt. Ob z. B. in dem für viele meiner Objekte sehr günstigen Erdeauszug sich leicht verwertbare Stoffe befinden, scheint mir sehr zweifelhaft, da eine Bakterienentwickelung darin nur in geringem Maße auftrat. Auch behielten solche ausgefaulten Extrakte ihre Wirksamkeit. Eine Förderung des Wachstums von Organismen durch sogen. Humusstoffe ist ja oft genug festgestellt worden, ohne daß diese die Stelle der eigentlichen Nährstoffe zu vertreten vermocht hätten. Wenn man das als „Reizwirkung" bezeichnen will, so ist schließlich nicht viel dagegen zu sagen. Doch ist die Sache damit nicht erklärt.

Um eine Nährlösung mit den wirksamen Stoffen des Agars herzustellen, die vielleicht allen in meinen Platten gewachsenen Organismen Vermehrung erlauben sollte, versuchte ich einmal, sehr geringe Mengen von Agar-Agar, etwa 0,1 %, zu verwenden. Es entsteht dann eine nur eben noch ganz schwach gallertige Masse, die sich leicht zu einer opalisierenden Flüssigkeit zerschütteln läßt. Der Erfolg war bis jetzt gering, doch läßt sich das Resultat wegen des ohnehin sehr mangelhaften Wachstums im Winter noch nicht übersehen. Weiterhin stellte ich dann durch Hydrolyse von Agar-Agar mit verdünnter Schwefelsäure in der Hitze und Neutralisieren mit pulverisierter Kreide eine bräunlich gefärbte, völlig flüssige und klar durch Papier filtrierende Lösung her, die offenbar reich an Zuckern war und Fehlingsche Lösung reduzierte. Sie kam in sehr verdünntem Zustande mit den notwendigen Nährsalzen in Verwendung, ohne bisher irgend welches Algenwachstum zu erlauben. Auch als Verunreinigung auftretende Pilze gediehen darin sehr schlecht. Eine Methode, die im Agar gewachsenen Algen in Flüssigkeit sicher weiter zu kultivieren, ist also bisher nicht gefunden[1]).

Die Kulturen wurden zum größten Teil an dem nach Norden gelegenen Fenster meines Arbeitsraumes untergebracht, wobei ich mich der von O. Richter[2]) empfohlenen Anordnung bediente. Die Petrischalen standen in hohen Stößen unter Glaszylindern auf dem Fensterbrette. Wurde auf diese Weise der Staub abgehalten und die Ver-

[1]) Wie sich später zeigte, beruhen die Mißerfolge mit Nährsalzlösungen z. T. auf giftigen Beimengungen des destillierten Wassers. Vergl. S. 327.

[2]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 153.

dunstung herabgesetzt, was sich bei der langen Dauer der Versuche als notwendig erwies, so lief oft das durch Temperaturdifferenzen im Deckel angesammelte Wasser zwischen Schale und Deckelrand herunter. Noch störender aber erwies sich zuerst das Auftreten von Pilzen (Penicillium) auf den gummierten Papieretiketten in dem feuchten Raume. Dadurch wurde manche schöne Kulturplatte infiziert. Die Pilze wuchsen mit Vorliebe gerade auf den Algenkolonien, in denen sie offenbar mehr Nährstoffe fanden als im Agar. Die Algen gingen dann unter Verfärbung zugrunde. Erst versuchte ich die Pilze mit Hilfe eines in Alkohol getauchten Pinsels zu entfernen. Später benutzte ich mit mehr Glück eine desinfizierende Lösung, und zwar der Sichtbarkeit wegen eine solche von Kaliumbichronat, zum Ankleben der Etiketten, womit diese Schwierigkeit behoben war. Es gelang mir so, manche Platten über ein Vierteljahr zu erhalten.

Beim Plattengießen wurden die Röhrchen mit etwa 10 ccm des geschmolzenen Agars in einem Wasserbade auf genau 40° C. gebracht, dann wurde etwas von einer Algenaufschwemmung hinzugetan und gewöhnlich noch mit etwa 0,5 ccm der ersten Mischung eine Verdünnungsplatte angelegt. Die Petrischalen hatten 10 cm Durchmesser.

War etwas gewachsen, dann wurde eine geeignete Kolonie unter dem Mikroskope ausgesucht, wobei ich mit Leitz-Objektiv 4 und Comp. Okular 12 bis zu 304facher Vergrößerung kam. Die beste Stelle zum Weiterimpfen wurde auf der Rückseite der Schale mit einem Tintenkreis bezeichnet, dann die Schale nun mit dem Deckel nach oben auf den Mikroskoptisch gestellt und bei der Beleuchtung von unten ohne Kondensor, die eine besonders gute Unterscheidung erlaubte, ein Agarstückchen mit der betreffenden Kolonie herauspräpariert. Dazu dienten mir an Stelle der gewöhnlichen Impfnadeln aus Platindraht solche aus 25prozent. Platiniridium, die ich mir von Heraeus in Hanau kommen ließ. Sie besitzen eine beträchtliche Steifheit und Elastizität, was sie für unseren Zweck geeignet macht, und sind nicht viel teurer als Platin[1]). Man kann sie leicht an der Spitze breit klopfen und zu einer scharfen Schneide zurechtschleifen. Die mechanischen Eigenschaften sind ungefähr dieselben wie die von hartem Messingdraht.

Das Agarstückchen wurde vorsichtig an der Innenwand des Reagenzglases verrieben und nach dem Mischen die Platte gegossen.

Ein Auftragen der Impfmasse auf die Oberfläche des erstarrten Agars bewährte sich sehr viel schlechter und war erst nach Zurückdrängung der Bakterien mit einigem Erfolge möglich, weil diese sich

---

[1]) Platiniridiumnadeln empfiehlt auch A. Meyer in seinem Praktikum der botan. Bakterienkunde.

sonst auf dem Substrate so stark ausbreiteten, daß sie die Algen bald ganz und gar überwucherten. Sind sie dagegen unter der Oberfläche des Agars festgehalten, so werden sie an der räumlichen Verbreitung verhindert. Sie entwickeln sich dann meist nur zu sehr winzigen Kolonien, die das Aussehen einer Platte nicht sehr beeinträchtigen und die Algen kaum schädigen. Viel störender sind die bald große Flächen einnehmenden Pilze.

Oft sah eine Platte oder doch Partien von ihr unter dem Mikroskope so völlig rein aus, daß es aussichtsvoll erschien, davon in Schrägröhrchen oder in organische Flüssigkeiten zu impfen. Das brachte aber gewöhnlich Enttäuschungen. Nur eine sehr häufige Wiederholung des Plattengießens unter stetiger mikroskopischer Kontrolle kann schließlich zu bakterienfreien Kulturen führen. Deshalb sind meine Untersuchungen noch nicht so weit gediehen wie ich anfangs hoffen durfte.

Im allgemeinen scheint die Bakterienfreiheit bei den „kriechenden“ Formen viel leichter zu erreichen zu sein als bei den unbeweglichen. Zu den ersteren gehören die metabolischen Flagellaten, die meisten Conjugaten: Mesotaeniaceen, Desmidiaceen und Zygnemaceen, dann Diatomeen und Oscillatoriaceen, also eine stattliche Anzahl der hier in Betracht kommenden Formen. Die Beweglichkeit führt die Individuen von selbst nach bakterienfreien Stellen im Agar, läßt sie außen ansitzende Keime abstreifen und erlaubt ihnen bessere Vermehrung als sie bei den meist in dicken Klumpen wachsenden unbeweglichen Arten möglich ist. In solchen dichten Kolonien vermehren sich die Bakterien auf irgend welchen abgeschiedenen Schleimstoffen und dergleichen, ohne daß man mit schwächeren Vergrößerungen etwas davon sieht.

Mit der leichteren Verschiebbarkeit in der Agargallerte mag es z. T. zusammenhängen, daß kleine Formen leichter kultivierbar sind als große, denn die nach der Teilung zusammengepreßt bleibenden relativ größeren Zellen werden von einander und von Bakterien mehr zu leiden haben als sich weiter ausbreitende kleine Formen. Es scheint mir aber noch ein innerer Grund hinzuzukommen, eine größere Empfindlichkeit der großzelligeren Formen, wenigstens bei verwandten Organismen. Vielleicht liegt hier im kleinen etwas Ähnliches vor wie bei der Regel, daß in den verschiedensten Reihen der Lebewesen die Riesen Endglieder darstellen, die dem Kampfe ums Leben nur unter ganz bestimmten, eng umschriebenen Bedingungen gewachsen sind.

Allgemeine Ergebnisse.

Was die in meinen Agarplatten gewachsenen chlorophyllführenden Organismen anbelangt, so gehören sie zu den verschiedenartigsten Gruppen der sogen. Algen im weitesten Sinne.

Am üppigsten und häufigsten gediehen zweifellos Oscillatoriaceen und Bacillariaceen. Von ersteren mannigfache Oscillatoria- und Nostocarten, von letzteren hauptsächlich kleine Nitzschia- und Naviculaformen, wie sie schon O. Richter und Th. Meinhold auf Agar kultiviert haben. Besonders die Diatomeen waren bei ihrem häufigen Vorkommen, ihrer raschen Vermehrung und großen Beweglichkeit im Agar in vielen Platten so zahlreich und überall gegenwärtig, daß man schwer eine von ihnen freie Stelle finden konnte, um irgend welche anderen Algen abzuimpfen. Fast ebenso ging es mit den Oscillarien. Beide machten kaum einen Unterschied zwischen Ammon- und Nitratstickstoff.

Im ganzen bevorzugten wohl ebenso viele Algen Ammonstickstoff wie Nitrat. Viele schienen ausschließlich auf eins von beiden angewiesen. Die Konsistenz des Agars schien keine große Rolle zu spielen, sodaß ich den derben zweiprozentigen bevorzugte. Verschiedene Salzkonzentrationen wurden nicht ausgeprobt, da die geringsten Salzmengen zur Ernährung ausreichen und von ihnen weniger eine Schädigung zu erwarten ist als von konzentrierteren Lösungen.

Es sind aus Wasserproben von verschiedener Herkunft Organismen aus folgenden Gruppen auf meinen Platten gewachsen:

(Nitrat u. Ammon)	Schizophyceen	Chroococcaceen, Lyngbyaceen, Nostocaceen, Scytonemaceae.
(Nitrat u. Ammon)	Flagellatae	Euglenaceen, nämlich Euglena viridis, E. deses, E. gracilis und Phacus pleuronectes.
(Ammon)	Conjugatae	Mesotaeniaceen, nämlich Cylindrocystis.
(Ammon)		Zygnemaceen, nämlich Zygnema, Spirogyra, Mesocarpus.
(Ammon)		Desmidiaceae, Closterium, Cosmarium, Staurastrum.

(Nitrat u. Ammon)	Bacillariaceae	Arten von Nitzschia, Navicula, Gomphonema, Cymbella, Fragilaria u. a.
(Nitrat u. Ammon)	Volvocales	Chlamydomonadaceen, u. zw. Chlamydomonasarten, Haematococcus pluvialis. Volvocaceen, Gonium.
(Nitrat u. Ammon)	Protococcales	Protococcaceen, Pleurococcaceen, Scenedesmaceen, Hydrodictyaceen, Pediastrum.
(Ammon)	Ulotrichales	Coleochaetaceen.
(Nitrat)	Siphonales	Vaucheriaceen.
(Ammon)	Bryophyten	Moosprotonemen.
(Ammon)	Pteridophyten	Farnprothallien.

Ferner von farblosen Organismen: Bakterien, Pilze, Amoeben, Myxomyceten, Flagellaten, Infusorien, Nematoden.

Auffallend war es, daß bei der Verwendung von Kleinalgen-Gemischen zu Rohkulturen in Nährsalzlösungen mit und ohne Erdeauszug sehr bald die weniger interessanten, weil häufigen Formen, vorherrschten, nämlich Oscillarien, Diatomeen, Protococcaceen und Scenedesmaceen. Wurden dagegen die Keime von einander getrennt, indem von dem frischen Material, das in der Ursprungsflüssigkeit ohne Gefahr 3—4 und mehr Tage aufbewahrt werden konnte, Platten gegossen wurden, so erschienen oft eigenartigere Formen. Freilich wuchsen auch dann oft andere Arten, als sie bei mikroskopischer Prüfung bald nach dem Fange vorherrschend gefunden worden waren. Immerhin glaube ich in der so einfachen Plattengußmethode mit gewässertem Mineralsalzagar ein Hilfsmittel der Algenforschung empfehlen zu dürfen, das manches interessante Resultat verspricht, ganz abgesehen von den Aussichten, bakterienfreie oder wenigstens artreine Kulturen zu gewinnen. Vielleicht läßt sich diese Methode zu einer Art von biologischer Analyse der Gewässer ausbauen, in ähnlicher Weise, wie das für ganz heterotrophe Organismen mit Hilfe von Bouillon- und Peptonnährböden gelungen ist. Für diesen Versuch spricht auch der Umstand, daß viele im Objektträgerpräparat zu unförmlichen Knäueln zusammengeballte Algen im Agar ihre schönen Verzweigungssysteme,

wie es scheint, ganz ungestört entfalten, jedenfalls aber Zellteilung und Kolonienanordnung sich sehr elegant darstellen, wofür die Abbildungen Belege sein mögen.

Selbstverständlich weiß ich wohl, daß die unnatürlichen Bedingungen in solchen Kulturen mancherlei in der Natur nicht vorkommende Abnormitäten zeitigen werden. Aber ist denn das bei der Züchtung von Algen in Nährlösungen oder in künstlichen Pilzkulturen nicht auch der Fall? Und beide erscheinen uns heute als unentbehrliche Hilfsmittel der Forschung.

Die Erkennung, d. h. Bestimmung von Algen in Agarplatten wird anfänglich Schwierigkeiten machen, weil ihr Anblick in dieser Weise vielfach Neues bietet. Hat man aber erst eine Sammlung von leicht herstellbaren Mikrophotographien der Kolonien zur Verfügung, so werden zu den bekannten neue Merkmale hinzukommen, die die Bestimmung erleichtern. Anfangs erschien mir der Vorschlag von O. Richter[1]), die Kolonieformen kleiner Diatomeen als Hilfsmittel der Diagnose zu verwenden, wenig aussichtsvoll. Jetzt aber habe ich mich durch den Augenschein davon überzeugt, daß etwas derartiges gewiß möglich ist, wenn man sich auf ein bestimmtes Rezept für die Herstellung des Nährbodens einigt, wie das ja für die Wasseranalyse u. dgl. auch geschehen mußte. Ich schlage zu dem Zwecke die von mir verwendeten so einfachen Mischungen vor. Man kann das Material leicht in sterilen Sammelröhrchen heimbringen und dann Platten davon gießen, deren Entwickelung neben der direkten mikroskopischen Kontrolle helfen wird die Verbreitung bestimmter Formen zu studieren und vor allem die Spezifität der Standorte, ein so sehr interessantes Problem, aufzuklären, was bei Algen sicherlich leichter ist als bei irgend welchen anderen Organismen.

Für das Verständnis der charakteristischen Form der Kolonien ist es ebenso wichtig, die aus einer Teilung hervorgegangenen Zellen dauernd beisammen gehalten zu sehen als die durch Wachstumsverschiebungen, Schleimausscheidung oder Kriechbewegung bewirkte Auflockerung der aus einer Zelle hervorgegangenen Familie zu verfolgen. Dabei spielt wieder die Form der Zellen und ihr Widerstand im gallertigen Substrate eine große Rolle, worauf ich noch zurückkomme.

Schließlich scheint mir die Farbe der Kolonien, wie sie besonders bei Beleuchtung von unten auf dem Mikroskoptisch, d. h. bei Beobachtung auf dunklem Grunde, deutlich wird, nicht ohne Bedeutung zu sein. So haben die Konjugaten ein anderes Grün als die Volvocaceen und wieder ein anderes als die Scenedesmaceen. Vielleicht

[1]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 131.

kann man diese Differenzen auf exakte Basis stellen und als systematisches resp. algologisches Hilfsmittel in gewissen Fällen verwenden. Nur die Schizophyceen scheinen sich durch sehr verschiedenartiges Mischungsverhältnis ihrer drei Farbstoffe, des Chlorophylls, Cyanophycins und Carotins auszuzeichnen, und ähnliches kommt bei einzelnen Peridineen und Cryptomonasarten vor. Soweit ich aber bisher sehen konnte, ist eine bestimmte Tönung für die einzelnen Arten charakteristisch, solange sie sich vermehren. Erst wenn ihr Wachstum gehemmt ist, finden Änderungen statt. Eine Wiederholung der Gaidukowschen Untersuchungen über komplementäre chromatische Adaption mit sicheren Speziesreinkulturen habe ich unternommen, ohne bisher irgend welche positiven Resultate zu erzielen. Überhaupt scheint mir für diese im Agar so gut wachsenden Organismen, die sich auch leicht weiter kultivieren lassen, unsere Methode in der Hand eines erfahrenen Algologen sehr viel zu versprechen. Denn was wir über die Artabgrenzung wissen, ist sehr wenig. Meine Sache wird es sein, die Ernährungsverhältnisse einem eingehenden Studium zu unterziehen.

Einzelbeobachtungen.

Im folgenden soll von den in meinen Kulturen beobachteten Organismen, soweit sie überhaupt näher verfolgt wurden, dasjenige mitgeteilt werden, was meine Aufmerksamkeit erregte. Die Ergebnisse, die mit gelungenen Reinkulturen erzielt wurden, sollen einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben. Es ist das bisher nur mit wenigen Arten geglückt, die aber doch schon manches interessante versprechen, nämlich mit einigen Scenedesmaceen, Protococcaceen und Chlamydomonasarten, mit Haematococcus pluvialis, Euglena gracilis, einem Nostoc und zwei Oscillariaarten.

Natürlich wurden nicht alle beobachteten Algenarten bestimmt, was wohl auch große Schwierigkeiten gehabt hätte. Besonders die oft auftretenden winzigen Arten von Diatomeen, Oscillarieen und grünen kugeligen Algen wurden nicht weiter verfolgt. Zwar könnte sicher die Unterscheidung gerade dieser Formen, die möglicherweise im Naturhaushalte eine größere Rolle spielen als man heute weiß, durch Kulturversuche viel gewinnen, doch bot diese Art der Arbeit vorläufig nicht genug Interesse, weil andere Aufgaben drängten. Deshalb wurde die Aufmerksamkeit zunächst den größeren und leichter erkennbaren Arten zugewandt.

Zygnemaceen.

Von Conjugaten wuchsen die Zygnemaceen im Agar nicht sehr gut, wie sich das denken läßt. Doch traten Mesocarpus, Zygnema und eine kleine Spirogyraart mit sehr engen Schraubenbändern in Platten auf, die mit Material aus einem klaren Gebirgsbache bei Tölz in Oberbayern beschickt worden waren. Hierin herrschte bei mikroskopischer Prüfung des frischen Materials Zygnema und Fragilaria vor. Mesocarpus wuchs in einer Petrischale mit ungewässertem Ammonphosphat-Agar, Zygnema und Spirogyra in gewässertem, alle drei also mit Ammonstickstoff. Sie sahen dabei in den primären Platten sehr frisch und gesund aus und bildeten vielfach Schlingen, die durch das interkalare Wachstum auf der Agaroberfläche entlang geschoben wurden. Keine der drei Fadenalgen wuchs in den von der ersten Kultur angelegten weiteren Agargüssen. Vielleicht können nur Zygoten die Erwärmung überstehen. Beim Übertragen auf die Oberfläche des erstarrten Agars wuchs Zygnema auf neutralem Ammoniumphosphat-Agar weiter, während es auf schwach sauerem, mit KH_2PO_4 versetztem Agar in abgerundete mehrzellige Stücke zerfiel, die noch Teilungen der Zellen aufwiesen und lange lebten (Figur 1, Tafel IX). Zygnema und Mesocarpus konnten auch in verdünnter Erdabkochung mit 0,1% KNO_3, wenn auch nicht sehr üppig, weitergezüchtet werden, was bei Spirogyra nicht gelang. Wasser aus einem Bassin des botanischen Gartens mit 0,1% NH_4NO_3 erlaubte Zygnema kein Wachstum. Eingehendere Versuche wurden mit diesen Algen nicht angestellt, weil für die Reinkultur wenig Hoffnung vorlag und an Rohkulturen genug Erfahrungen gesammelt worden sind.

Desmidiaceen.

Über Kulturversuche mit Desmidiaceen liegen wenig Mitteilungen vor. „Man kann verschiedene Desmidiaceen, z. B. die widerstandsfähigen Cosmarium-Arten, Desmidien u. a. längere Zeit im Laboratorium vorrätig halten und sogar zur Vermehrung bringen, wenn man sie in dem Originalwasser ihrer Fundorte beläßt“ (Andreesen)[1]. „Klebs[2]) konnte namentlich Cosmarium botrytis in Wassergefäßen über Lehm an kühlen Plätzen des Laboratoriums lange in Entwickelung erhalten“ (Küster)[3]. Ich selbst fand Erdeschlamm mit destilliertem Wasser für einige Formen brauchbar.

---

[1]) A. Andreesen, Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceen. Flora 1909, Bd. 99. S. 1.

[2]) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.

[3]) E. Küster, Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig und Berlin 1907. S. 113.

Eine Aufschwemmung von Gartenerde wurde durch Schlämmen vom Sande befreit. Der abgesetzte schwarze Schlamm mit wenig Wasser erlaubte Closterium Lunula gute Vermehrung. Um den nach neun Wochen (11. November 1911 bis 16. Januar 1912) eintretenden Stillstand aufzuheben, wurde mit 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ gedüngt. Hierauf gingen die Kulturen sehr zurück. Vor der Düngung hatten die Zellen sehr viel Stärke angehäuft, besaßen aber sehr wenig Gipskristalle, beides offenbar aus Mangel an Nährsalzen.

Doch sind mit Lösungen bekannter Zusammensetzung bisher nur geringe Erfolge erzielt worden. Denn anorganische Salzlösungen scheinen den meisten Arten nicht zu genügen, und organische ließen sich wegen des Mangels an bakterienfreien Reinkulturen nicht verwenden. Man weiß deshalb nicht, woher es kommt, daß manche Desmidiaceen sich unter gewissen Umständen ziemlich plötzlich sehr stark vermehren können, wie z. B. Closterium Lunula und Pleurotaenium Ehrenbergi im November 1911 in verschiedenen Becken des Münchener Viktoriahauses, wo Tausende von Individuen mit einem Gefäß herausgeschöpft werden konnten (briefliche Mitteilung von Herrn Dr. O. Renner). Ebensowenig weiß man bisher, weshalb gewisse Standorte, wie Moorlachen, Sphagnumpolster, von vielen Arten so sehr bevorzugt werden.

Freilich ist es Andreesens eigens hierauf gerichteten Bemühungen gelungen, in einer bestimmten Nährsalzmischung, nämlich in alkalisch gemachter Knopscher Lösung, bei Cosmarium botrytis eine leidliche Vermehrung zu erzielen, auch dann, wenn das Kaliumnitrat durch Nitrit ersetzt war. Doch schlugen Versuche mit anderen von den gebräuchlichen Nährlösungen durchaus fehl, und für Closterium moniliferum wurde gar kein positives Resultat erzielt. O. Richter[1]) irrt daher, wenn er sagt: „Andreesen benutzte bei seinen Desmidiaceen-Kulturen sowohl die Lösung von Knop und Varianten derselben als auch die von Beijerinck und die von Oehlmann mit gutem Erfolge." Erwies sich doch sogar die übliche Knopsche Lösung wegen ihrer sauren Reaktion als direkt tödlich.

Auf Andreesens Ergebnisse mit organischen Stoffen komme ich gelegentlich zurück. Im ganzen gewinnt man den Eindruck, daß solche für manche Formen unentbehrlich sind, oder doch ohne sie die Vermehrung gering ist.

Andreesen benutzte zur Isolierung einzelner Individuen Kapillarpipetten. Er sagt: „Die übliche Methode, mit Hilfe der Kochschen Platten einzelne Zellen zu isolieren, konnte nicht in Frage kommen, da die Desmidiaceen heißer, flüssiger Gelatine nicht widerstehen, ganz abgesehen davon, daß die Gelatine selbst schon ein Nährmedium un-

[1]) O. Richter, Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911. S. 100.

genügend bekannter Zusammensetzung darstellt und eine Kultur mit Hilfe genau kontrollierbarer Nährmittel illusorisch macht" (a. a. O. S. 2). Auf Grund welcher Versuche dieses Urteil abgegeben wird, läßt sich nicht ersehen. „Heiß" braucht ja die Gelatine nicht zu sein, da sie bis zu 30° C. herunter flüssig bleibt. Ich konnte mich leicht davon überzeugen, daß verschiedene Formen diese Temperatur und sogar die 40° des flüssigen Agars vorübergehend gut vertragen.

Es wurde ein Wasserbad von 42° C. hergestellt. In diesem befanden sich kleine, 10 mm dicke Reagensgläser mit Wasser derselben Temperatur. Aus zwei Rohkulturen, von denen die eine Closterium Lunula und Pleurotaenium Ehrenbergi, die andere Closterium Ehrenbergi enthielt, wurde Material in je zwei Reagensgläschen pipettiert. Diese wurden während einer Minute in dem Wasserbade gerührt, dann ebenso in kaltem Wasser. Zum Vergleich kamen je zwei Proben in ebensolche Röhrchen mit kaltem Wasser. Nach einem, zwei und sieben Tagen zeigten sich keine Schädigungen an den Desmidiaceen, die sogar Teilungen eingingen. Ebenso blieben Infusorien, Diatomeen, Rotatorien etc. durchaus gesund. Bei geschickter Anwendung des Plattenverfahrens werden die Organismen der Wärme keinesfalls länger ausgesetzt als bei diesem Versuche. Außerdem hat Tischutkin[1]) lange vor Andreesen Agarkulturen auch von Desmidiaceen, und zwar von Penium, Closterium und Cosmarium mit Hilfe des Plattengusses hergestellt, was schon manche von Andreesens Schlüssen widerlegt.

Größere Formen, wie Closterium Lunula und Pleurotaenium Ehrenbergi gingen freilich, in Agar eingeschmolzen, bald zugrunde, aber wie es schien, mehr weil sie sich darin nicht bewegen konnten und deshalb von Bakterien stark belästigt wurden, als wegen der Schädigung durch die Temperatur des flüssigen Agars. Diesen Eindruck erweckte wenigstens das mikroskopische Bild. Anders ist es mit kleinen Arten. Das beweisen die folgenden Versuche.

Ende April 1911 wurde Algenmaterial aus einem kleinen Tümpel bei Trotha, nördlich von Halle, geholt. Das kleine, mitten im Felde gelegene Wasserbecken war durch hineingeworfenes Kartoffelstroh reichlich mit organischen Stoffen gedüngt. Auf seiner Oberfläche war eine Haut von kräftig grüner Farbe entwickelt, die sich bei mikroskopischer Kontrolle als zusammengesetzt aus Euglena viridis und einer Chlamydomonasart (wohl Chl. de Baryana) erwies.

Davon wurden Anfang Mai Platten gegossen, und zwar mit gewässertem und mit ungewässertem Agar, der entsprechend dem früher gegebenen Rezepte (s. S. 309) Ammoniumphosphat als Stickstoffquelle enthielt. Er soll im folgenden als gew. resp. ungew. Amph. Ag. bezeichnet werden. Mitte Juli fand ich bei mikroskopischer Kontrolle der

---

[1]) A. Tischutkin, Über Agar-Agar-Kulturen einiger Algen und Amoeben. Zentralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. III. 1897.

mit gewässertem Agar beschickten Petrischalen zwischen mancherlei anderem dichte grüne Kolonien eines scheinbar aus zwei Kugeln zusammengesetzten Lebewesens, das sich bei stärkerer Vergrößerung als ein sehr kleines Cosmarium entpuppte.

Die Form, von der ich eine Photographie beifüge, scheint mir dem C. laeve Rabenhorst zu entsprechen (vgl. Wolle[1]), S. 72a und Figur 2, Tafel IX). Sie hat dessen kleine Dimensionen und die glatte Zellwand. Auch die Form der Zellhälften stimmt befriedigend. Länge etwa 130—140 μ, Breite 125—130 μ.

Ferner fielen mir lockere frischgrüne Kolonien auf, die von einem gleichfalls recht kleinen Closterium gebildet wurden. Die Spezies ganz sicher zu bestimmen, ist wegen der in den Diagnosen betonten Variabilität nicht möglich gewesen. Nach Wolle (a. a. O., Tafel VII) würde Cl. strigosum Ehrb. gut stimmen. Nur sind die Endbläschen bei meiner Art nicht so nahe der Spitze. Bei Cohn[2]) und de Wildemann[3]) ist nur ein Cl. strigosum Bréb. verzeichnet, das offenbar schmäler als meine Form ist. Doch ist damit ungefähr die Stellung meiner Art gekennzeichnet. Über den Artwert besonders der kleinen Formen scheinen nur Kulturversuche Sicherheit geben zu können. Wie später gezeigt werden soll, kann auch das von mir kultivierte Closterium längere Zellen bilden als sie gewöhnlich gefunden werden. Es nimmt dann auch die Zahl der Pyrenoïde zu, sodaß die Diagnose auch von Cl. strigosum Bréb. ganz gut passen würde. (Figur 3, Tafel IX.)

Bei den meisten Exemplaren ist die Länge 160—180 μ, die Breite 20—25 μ.

Diese beiden Desmidiaceen mußten also den Prozeß des Plattengießens mit der allerdings nur kurz dauernden Einwirkung von 40° C. überstanden und sich von den im gewässerten Ammoniumphosphatagar enthaltenen Stoffen ernährt haben, denn offenbar gingen die Kolonien von einer Zelle aus, die sich auf das Vielhundertfache vermehrt hatte.

Da in dem Ausgangsmaterial von Desmidiaceen nichts bemerkt worden war, lag die Vermutung nahe, daß sie darin in Form der vielleicht ganz vereinzelten widerstandsfähigen Zygoten enthalten gewesen waren, und daß nur diese die Anlage der Agarplatten aushalten könnten. Dann wäre von einer Weiterzüchtung in Agar nicht viel zu hoffen gewesen. Deshalb wurden am 25. Juli Flüssigkeitskulturen angelegt, und zwar zunächst in Erdeauszug mit Ammonsulfat einerseits und Kalisalpeter andererseits. Denn rein anorganische

[1]) Fr. Wolle, Desmids of the United States, Betlehem U. S. A. 1892.

[2]) Kryptogamenflora von Schlesien. Algen von Oscar Kirchner. Bd. II. 1. Hälfte. 1878, S. 139.

[3]) E. de Wildemann, Flore des Algues de Belgique. Bruxelles-Paris. 1896. S. 127.

Flüssigkeiten waren ja nach den vorliegenden Erfahrungen nicht günstig und organische konnten nicht verwendet werden, da schon der Augenschein das Vorhandensein kleiner Bakterienkolonien zwischen denen der Algen im Agar lehrte.

I. 25. Juli 1911 Cosmarium und Closterium aus noch nicht artreinen Kolonien in Erlenmeyerkölbchen mit sterilisierten Lösungen geimpft.

1. Zwei Kölbchen mit hellgelblichem Erdeauszug + 0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,025% $MgSO_4$ + 0,025% K_2HPO_4.

2. Zwei Kölbchen mit ähnlicher Lösung, die anstatt Ammonsulfat KNO_3 enthielt.

Ergebnis am 5. Oktober 1911:

Cosmariumkulturen. 1a. Wenig *Euglena viridis*. 1b. Ebenso, daneben aber auch Cosmarium. 2a. und b. Vereinzelte Cosmarien mit sehr viel Stärke, daneben kleine Diatomeen.

Closteriumkulturen. 1a. Verschiedene Algen, hauptsächlich Hormidium. 1b. Ebenso, Hormidium, Scenedesmus, Diatomeen. 2a. Chlamydomonas, Scenedesmus, Diatomeen. 2b. Ebenso, auch Hormidium.

Die Versuche zeigten also nur für Cosmarium Vermehrung, und zwar in Erdeauszug mit Ammonstickstoff, welch letzterer auch in den Ausgangsplatten die Stickstoffquelle dargestellt hatte. Ammonphosphat war mit Erdeauszug wegen des Niederschlages von Calciumphosphat nicht gut zu verwenden.

Dieses Resultat ist nicht sehr günstig. Glücklicherweise hatte sich inzwischen schon gezeigt, daß die beiden Desmidiaceen sich durch Plattenguß von dem in den Ausgangsschalen gewachsenen Material weiterzüchten ließen.

Closterium.

II. Am 26. Juli 1911 wurden je zwei Platten mit folgenden Agarmischungen herstellt:

1. Ungewässerter Agar mit 0,1% $(NH_4)_2SO_4$, 0,025% $MgSO_4$ und 0,025% K_2HPO_4.

2. Ebenso, aber dazu wenig Erdeauszug.

3. Gewässerter Agar mit $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$ und K_2HPO_4 (gew. Amph. Ag.).

Ergebnis am 11. September 1911.

1. u. 2. Keine Closterien, aber verschiedene andere Algen und Bakterien.

3. Gute Kolonien von Closterium, andere Algen und kleine Bakterienkolonien.

Es erwies sich also wieder der gew. Amph. Ag., der schon die ersten Kolonien geliefert hatte, als gut geeignet, nicht aber die anderen Mischungen. In den Platten zeigten sich beim Älterwerden am 14. Oktober Monstrositäten, ähnlich, aber doch nicht ganz gleich denen, die Andreesen (a. a. O. S. 26 ff.) und de Wildemann (Andreesen S. 41)

beobachtet haben. Sie kommen durch das Ausbleiben der Zellteilungen bei fortgesetztem Längenwachstum zustande, wodurch lange, schlauchartige Bildungen entstehen, die niemand für Closterien halten würde. Ihr Aussehen ergibt sich aus der Photographie Figur 4, Tafel IX besser als aus Beschreibungen. Man sieht, daß sie durch alle Übergänge mit den normalen Formen verbunden sind. Auch sind vielfach an der Zellwand seitlich von der Kernhöhle abstehende Läppchen zu erkennen, wohl die Reste der beim Zellwachstum gesprengten äußeren Wandschichten. Ferner ist in der Photographie 4 ein Kopulationsstadium festgehalten, das aber nicht zur Bildung einer Zygote führte. Weder diesen Vorgang noch die schlauchartigen Monstrositäten konnte ich in späteren Kulturen wieder erhalten. Ich weiß also nicht, welche Bedingungen zu ihrer Entstehung nötig sind.

III. Um zu entscheiden, ob bei dem bisher allein brauchbar gefundenen gew. Amph. Ag. das Wässern des Agar-Agars von Bedeutung für den Erfolg ist, wurden am 14. September Platten mit sonst ganz gleich zusammengesetztem Nährboden der alten Art ohne Vorbehandlung des Agars angelegt.

Geimpft wurde wieder in den flüssigen Agar, und zwar aus einer Platte vom 26. Juli.

Ergebnis am 14. Oktober:

Gew. Amph. Ag. Sehr gut gewachsen, manche Kolonien sehen recht rein aus. Eine kleinere davon zeigt die Photographie 5, Tafel IX. Durch die schwache Biegung der Zellen gehen die Kriechbewegungen im Bogen vor sich, was die eigenartige, bezeichnende Form der Kolonien bedingt.

Ungew. Amph. Ag. Sehr viel unreiner und auch schlechter gewachsen. Immerhin an manchen Stellen Vermehrung der Closterien, die sich aber weniger weit voneinander entfernen und schon deshalb mehr unter den auch stärker wachsenden Bakterien zu leiden haben.

Am 26. Oktober:

Gew. Amph. Ag. Weiter sehr gute Vermehrung, obgleich sich jetzt doch viele Bakterienkolonien zeigen.

Ungew. Amph. Ag. Etwas mehr als früher, aber recht unrein.

Am 24. November:

Gew. Amph. Ag. Sehr hübsch gewachsen, dicke grüne Kolonien, in denen die Individuen wohl zu vielen Hunderten eng gehäuft beieinander liegen, ohne Störungen im Wachstum und in der Zellform zu zeigen.

Ungew. Amph. Ag. Sind außerordentlich zurück, da seit vier Wochen kaum Vermehrung, auch an den verhältnismäßig reinen Stellen viele degenerierte Individuen mit unregelmäßigen Formen, aber ohne Schlauchbildung.

Am 6. Januar 1912:

Gew. Amph. Ag. Über und über voll Closterien, aber eingetrocknet.

Ungew. Amph. Ag. Immer noch der alte Zustand ohne weitere Vermehrung. Keine Zerrformen.

Der Versuch zeigt, daß im Agar-Agar irgend welche für Desmidiaceen schädliche Stoffe enthalten sind, die durch Wässern entfernt werden können.

Die weiteren Impfungen wuchsen langsam an, wohl wegen des schlechten Lichtes im Winter, auch zeigten sie nichts neues und führten nicht zu Reinkulturen, da immer wieder, wenn auch winzige, Bakterienkolonien auftraten.

Ein Versuch wurde noch gemacht, um zu sehen, ob Nitratstickstoff an Stelle von Ammonstickstoff verwertet werden könne.

IV. Am 15. Oktober wurden mit Material aus gew. Amph. Ag. vom 14. September 4 Schalen angelegt, zwei mit gew. Amph. Ag., zwei mit gew. KNO_3-Ag.

Ergebnis am 25. November:

Gew. Amph. Ag. Sehr gutes Wachstum, manche Kolonien schön rein, locker und weit ausgebreitet.

Gew. KNO_3-Ag. Keine Vermehrung. Die Individuen, die mit dem Mikroskop aufgefunden werden konnten, sehen krank aus und haben sich offenbar garnicht geteilt.

Aus diesem Versuche darf man wohl schließen, daß Nitratstickstoff ungeeignet ist und daß auch nicht etwa im Agar vorhandene Stickstoffquellen, vielleicht organischer Natur, das Wachstum in den Ammonphosphat-Kulturen bedingten, denn eine Giftwirkung der geringen Salpetermengen ist unwahrscheinlich.

Was die Bewegungserscheinungen der Closterien im Agar betrifft, so ist das Auseinanderkriechen der Individuen offenbar für den Erfolg von Bedeutung. Denn dadurch wird einmal gar zu große Häufung vermieden. Vor allem aber streifen sich die Zellen dabei den größten Teil der Bakterien ab. Die Bewegung schien auch in dem zweiprozentigen, also ziemlich derben Agar noch nicht sehr gehemmt zu sein, wenn sie auch nie unter dem Mikroskop verfolgt werden konnte oder bei den Photographien, die bis zu einer Minute Expositionszeit brauchten, eine Verwischung der Contouren bewirkt hätte.

Die Spuren der Kriechbewegung waren teilweise bei günstiger Beleuchtung so deutlich zu sehen, daß sie photographisch festgehalten werden konnten (Figur 6, Tafel IX). Man sieht auf der Photographie an zwei oder drei Stellen, wie durch die Teilung der Zellen eine Verzweigung der Kriechspuren zustande kommt und die Individuen dann in einen spitzen Winkel auseinanderführende Wege einschlagen.

Von Phototaxis wurden nur Andeutungen gefunden, in der Weise, daß die Kolonien sich hauptsächlich nach dem Lichte zu ausdehnten und die Kriechspuren vorzugsweise, aber nicht durchaus vorherrschend, die betreffende Richtung zeigten.

Cosmarium.

V. Ähnlich wie mit Closterium wurde mit Cosmarium vorgegangen.

Am 26. Juli 1911 wurden je zwei Platten mit folgenden Agarmischungen gegossen:

1. Ungewässerter Agar mit 0,1 % $(NH_4)_2SO_4$, 0,025 % $MgSO_4$ und K_2HPO_4.
2. Ebenso, aber dazu wenig Erdeauszug.
3. Gewässerter Agar mit $(NH_4)_2HPO_4$, $MgSO_4$ und K_2HPO_4.
4. Wie 1, aber an Stelle von Ammonsulfat Asparagin.
5. Ungew. Agar mit einer bis zur Geruchlosigkeit ausgefaulten Abkochung von Maiskörnern.

Ergebnis am 11. September 1911.

1. und 2. zeigen keine Cosmarien.

3. Sehr viele gelbgrüne Kolonien von Cosmarium, die fast rein aussehen auf beiden Platten. Üppiges Wachstum, Kolonien nach der Lichtseite ausgezogen, daher eiförmig mit dem spitzen Ende nach dem Fenster. Keine fremden Algen, keine Degenerationsformen.

4. Keine Cosmarien.

5. Sehr unrein, auch falsche Algen, aber daneben doch Cosmarien.

Wiederum erwies sich also der gew. Amph. Ag. als sehr geeignet, die anderen Mischungen dagegen wenig oder gar nicht.

Es mußte aber erst wieder entschieden werden, ob das Ergebnis nicht zum Teil auf das Wässern des Agars zu schieben war und ob dieses zur Erzielung guten Wachstums erforderlich ist.

VI. Am 14. September je zwei Platten mit gewässertem und ungewässertem Ammoniumphosphatagar von dem Material aus einer gew. Amph. Agar-Platte vom 26. Juli gegossen.

Ergebnis am 26. Oktober:

G e w. A m p h. A g. Cosmarien gut gewachsen, daneben aber viel Bakterienkolonien, obgleich die Ursprungskolonien rein ausgesehen hatten.

U n g e w. A m p h. A g. Auch viel Bakterien. Cosmarien weniger ausgebreitete und viel individuenärmere Kolonien bildend; doch immerhin leidliches Wachstum, das offenbar weniger gehemmt wird als das der Closterien in dem ungew. Ag. Später jedoch macht sich die Hemmung wieder stärker bemerkbar.

Am 24. November:

G e w. A m p h. A g. Sehr üppige Kolonien, gegen die die Bakterien bei Betrachtung mit bloßem Auge durchaus zurücktreten (Figur 1, Tafel X).

Ungew. Amph. Ag. Viel mehr Bakterien. Cosmarien haben sich in den letzten vier Wochen so gut wie gar nicht vermehrt.

Am 6. Januar 1912 keine wesentlichen Veränderungen.

Also auch bei Cosmarium Schädigung durch auswaschbare Stoffe des Agars.

Die weiteren Plattengüsse zeigten auch hier nichts neues und führten bisher leider nicht zu Reinkulturen, obgleich noch viermal, immer von den reinsten Stellen, weiter geimpft wurde.

Die Kriechbewegung der Cosmarien ist geringer als die der Closterien, so daß die Kolonien sehr dicht werden. Unter günstigen Umständen und bei weniger derbem Agar (1—1,5%) kriechen die Cosmarien aber doch ziemlich weit, vielleicht das Hundertfache ihrer Länge. Entsprechend der schon erwähnten stärkeren Phototaxis[1]) weisen die Kriechspuren, die hier gleichfalls gut verfolgt werden können, alle mehr oder weniger geradlinig nach dem Fenster. Wird die Platte gedreht, so wird ein Bogen beschrieben. Auch hier wieder die Gabelung der Spur nach der Teilung (Figur 7, Tafel IX). Die Schwesterindividuen kriechen aber oft eine Strecke weit genau parallel, resp. es wird von jeder der noch zusammenhängenden Hälften der die Spur bildende Schleim ausgesondert, bis dann die Trennung erfolgt. Man kann daraus schließen, daß das Kriechen von Cosmarium quer zur Teilungsebene erfolgen kann, was aber sicher nicht stets der Fall ist.

Monstrositäten oder Kopulationsformen wurden nicht beobachtet, können mir bei der Kleinheit der Art aber auch entgangen sein.

Flüssigkeitskulturen.

Die Versuche, meine beiden kleinen Desmidiaceen, die in Agar so hübsch wuchsen, auch in Flüssigkeiten oder auf anderen festen Unterlagen zu kultivieren, schlugen anfangs fehl.

Schon oben wurde gesagt, daß in Erdeaufguß mit zugesetztem Ammonstickstoff eine schwache Vermehrung von Cosmarium zu bemerken war, während Closterium nicht wuchs. Als ich später von den schon gereinigten Kolonien aus Agarplatten abimpfen konnte, wurde die Vermehrung fremder Algen verhindert, und es konnte bemerkt werden, daß in der erwähnten Lösung sich Closterium wenigstens lange am Leben hielt, allerdings ohne merkliche Vermehrung, während Cosmarium allmählich zu üppigen Kulturen heranwuchs.

Wurden mit einer ähnlichen Flüssigkeit, die aber den Stickstoff in Form von sekundärem Ammoniumphosphat enthielt, Gipsblöcke ge-

---

[1]) Vergl. Abb. 1, Tafel X.

tränkt, die in Schalen sterilisiert wurden, so trat darauf bei Cosmarium eine Vermehrung auf. Die Kriechbewegung war offenbar gering. Es ergab sich hier die Möglichkeit, die Algen lange zu erhalten, da der aufgeschliffene Deckel die Verdunstung verhinderte. Closterium wuchs nicht merklich und starb schließlich ab.

Das Cosmarium vermehrte sich monatelang, wenn auch langsam, sodaß es schließlich schleimige, durch Gasblasen aufgetriebene, Lager auf dem Gips bildete, die frisch grün aussahen und in denen lebhafte Teilung erfolgte (Figur 8, Tafel IX). Mikroskopisch sahen die Zellen normal und gesund aus. Etwas weniger, aber immerhin in langen Zeiträumen sehr deutlich, war die Vermehrung auf Gipsblöcken mit Wasser aus einem auszementierten Pflanzenbecken im Garten, das gleichfalls 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ zugesetzt bekam. Hier sahen die Algenlager weniger saftig aus. Die einzelnen Individuen erwiesen sich bei mikroskopischer Kontrolle als vollgepropft mit Stärke, sahen auch nicht so frisch grün aus wie in Erdabkochung. Der Versuch dauerte bisher vom 16. Juni 1911 bis 31. Mai 1912. Das Wachstum hält noch an[1]).

Recht nahe lag es, Torf zur Kultur zu verwenden, der ja die Wohnstätte so vieler Desmidiaceen bildet. Aber weder auf rohen mit destilliertem Wasser angefeuchteten, noch auf sterilisierten Torfziegelstücken konnte eine Vermehrung konstatiert werden.

Ganz vergeblich waren auch zunächst die Versuche, in rein unorganischen Salzlösungen eine irgend bemerkenswerte Vermehrung zu erzielen, obgleich die verschiedensten Versuche gemacht wurden. Es wurden für die Desmidiaceen folgende Lösungen vergeblich versucht:

1. 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,025 % $MgSO_4$ + 0,025 % $KHCO_3$.
2. 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,025 % $MgSO_4$ + 0,025 % K_2HPO_4.
3. 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + Erdabkochung.
4. 0,1 % KNO_3 + Erdabkochung.
5. Wie 1 + kohlensaure Magnesia.
6. Teichwasser + NH_4MgPO_4.
7. Knopsche } Lösung, mit Soda neutralisiert.
8. Sachssche } Lösung, mit Soda neutralisiert.
9. Pfeffersche } Lösung, mit Soda neutralisiert.
10. Humussäure[2]) in 0,1 % $(NH_4)_2HPO_4$ + wie 2.
11. Erdeaufguß filtriert und sterilisiert.

---

[1]) Jetzt Ende August in beiden Kulturen der Gips ganz und gar von der grünen schleimigen Masse bedeckt.

[2]) Dargestellt durch Auslaugen von Gartenerde mit Ammoniak und Fällen mit Schwefelsäure, sowie reichliches Dekantieren und Auswaschen im Filter Davon löst sich in der schwach alkalischen Lösung 2. ein klein wenig.

Closterium hielt sich in keiner dieser Lösungen. Comarium vermehrte sich in 2. und 6. etwas, in 3. gut, in allen anderen hielt es sich mehr oder weniger lange ohne sichtbare Vermehrung.

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß etwa im destillierten Wasser Giftstoffe enthalten wären, etwa Spuren von Schwermetallsalzen, wurde ein neuer Versuch angesetzt, in dem Wasser zur Verwendung kam, das mit Hilfe eines Glaskühlers noch einmal destilliert war. Gleichzeitig wollte ich prüfen, ob das Vorhandensein von Calcium und Eisen, die früher nicht absichtlich zugesetzt worden waren, die Nährlösung brauchbar mache. Schließlich kam ich auf die Idee, durch Verwendung des sehr schwer löslichen Magnesiumammoniumphosphates eine Nährlösung herzustellen, die nur Spuren von Salzen enthielt, in der diese kleinen Mengen aber nach Verbrauch regeneriert werden konnten. Dieses letztere Verfahren brachte dann den erhofften Erfolg. Leider war inzwischen durch die ungünstigen Verhältnisse im Winter das Closterium eingegangen, sodaß ich mich auf Cosmarium beschränken mußte. Es wurden folgende Nährlösungen verwendet:

1. 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$, 0,02% $MgSO_4$, 0,02% K_2HPO_4.
2. Ebenso + Spur Gips.
3. Ebenso + Spur $Fe_2(PO_4)_2$.
4. Ebenso + Spur $Fe_2(PO_4)_2$ + Spur Gips.
5. Wie 1, aber NH_4NO_3 anstatt des Phosphates.
6. Spur NH_4MgPO_4 + 0,025 K_2SO_4 je 50 ccm in Erlenmeyerkölbchen.

Geimpft aus Gipskultur vom 16. November 1911 am 24. April 1912.

Ergebnis am 18. Mai 1912. Bei 4. sehen die Eisenphosphatstückchen grünlich aus, die anderen Kulturen zeigen kein Wachstum.

23. Mai 1912. Bei 6. Entwickelung in hellgrünlichen lockeren Kolonien am Boden des Gefäßes, die ziemlich fest sitzen, so daß die Anordnung durch sanftes Schaukeln nicht zerstört wird. Bei 4. kein deutlicher Fortschritt.

31. Mai 1912. Ebenso weiter.

25. August 1912. 4. hat sich gut entwickelt.

Hiermit hatte ich also das erstemal eine rein anorganische Nährlösung gefunden, die dem Cosmarium Wachstum erlaubte. Der Erfolg ist wohl auf die niedere Konzentration der Nährstoffe zurückzuführen. Bei Gegenwart kolloïdaler Substanzen wie Agar-Agar oder Humaten könnte die Schädlichkeit der höheren Konzentration durch Adsorption oder dergleichen ausgeglichen werden. Doch bleibt das weiter zu verfolgen.

Zur Ergänzung dieses Versuches wurde nun noch der folgende angesetzt:

1. Käufliches destilliertes Wasser + Spur NH_4MgPO_4 + 0,025% K_2SO_4.
2. Regenwasser aus einem Sammelbecken an den Gewächshäusern + wie 1.

3. Mit Glaskühler noch einmal destilliertes Wasser (dopp. dest. W.) + wie 1.
4. Wie 3 + Spur $CaSO_4$.
5. Wie 3 + Spur $Fe_2(PO_4)_2$.
6. Wie 3 + Spur $Fe_2(PO_4)_2$ + Spur $CaSO_4$.
7. Dopp. dest. W. + 0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + Spur $MgCO_3$ + 0,01% einer Mischung von 100 Teilen K_2HPO_4 und 15 Teilen KH_2PO_4, die gegen Nilblau neutral war.

Geimpft am 8. Juni 1912 aus Gipskultur vom 28. Nov. 1911.

Ergebnis am 24. Juni 1912.

1. — tot. 2. und 3. Wenig Zellen aus dem Impfklümpchen herausgekrochen. 4. Ähnlich, etwas am Glase in die Höhe gekrochen. 5. Ähnlich, lockere Kolonien am Boden des Gefäßes. 6. Grünliche Wölkchen. 7. Wahrscheinlich Entwickelung, schleimige grüne Klümpchen.

Am 1. Juli 1912.

1. Tot. 2. Unverändert. 3. Der ganze Boden des Kölbchens ganz dünn bedeckt. 4. Viel grünliche Flöckchen. 5. Ähnlich, aber mehr. 6. Ziemlich viel, hübsch grün. 7. Wenig dünne grüne Flöckchen. (5. am besten.)

Am 10. Juli 1912.

2. Nichts zu sehen. 3. Hübsch weiterentwickelt. 4. Ähnlich, aber heller. 5. Etwas mehr und grüner. 6. Dichter, ähnlich. 7. Nicht schleimig aussehend, grüner Belag ganz locker. Mikroskopisch, viel Stärke, Teilungen.

Am 25. August 1912.

3.—6. etwa gleich, 3. etwas zurück gegen 4., 5. und 6. Die weißlich grüne Beschaffenheit rührt von vielen leeren Zellhäuten her. In allen Kölbchen ziemlich viel Cosmarien, die den Boden des Gefäßes ganz bedecken und etwas in die Höhe gekrochen sind. 7. Grüner Niederschlag, weniger weißlich, mehr körnig aussehend, aber auch viel leere Zellen. Die lebenden Zellen sehen auffallend abgerundet aus gegenüber den polyedrischen, wie sie Abb. 2, Tafel IX, zeigt.

Damit ist also gezeigt, daß eine rein anorganische Lösung mit Ammonsalzen als Stickstoffquellen bei möglichst neutraler Reaktion und Zusatz von Calcium und Eisen gute, wenn auch langsame Entwickelung erlaubt, vorausgesetzt, daß das Wasser keine schädlichen Beimengungen enthält, wie sie das gewöhnliche destillierte Wasser und ohne besondere Vorsicht aufgesammeltes Regenwasser enthalten. Diese schädlichen Substanzen werden aber durch kolloïdale Stoffe gebunden, wie es auch der nächste Versuch zeigt.

Kultur auf Kieselgallerte.

Das SiO_2-Gel wurde durch Vermischen von Wasserglas mit Salzsäure hergestellt, in Petrischalen erstarren gelassen, in Leitungswasser ausgewaschen und durch Überschichten mit einer Lösung von 0,1%

$(NH_4)_2HPO_4$, 0,02% K_2HPO_4 und 0,02% $MgSO_4$ in gewöhnlichem destilliertem Wasser gedüngt. Dann wurden die Schalen im Dampftopf sterilisiert. Die Cosmarien wurden aus der Gipskultur vom 28. Nov. 1911 entnommen, in sterilem Wasser aufgeschwemmt und über die Oberfläche ausgeschüttet. Nach einigen Minuten wurde der Überschuß der Flüssigkeit unter vorsichtigem Auseinanderspreizen der Schalen-Hälften abgegossen. Es blieben genug Zellen haften. 30. Juli 1912.

Ergebnis am 28. August 1912. Zahlreiche hübsch hellgrüne, schleimige Kolonien mit vielen Teilungen, die noch lebhaft im Wachstum begriffen sind. Verhältnismäßig schnelle und üppige Entwickelung, besser als Flüssigkeitskulturen, obgleich dieselbe Nährlösung ohne Kieselgallerte keine Entwickelung erlaubt. Bakterien oder Pilze nicht zu sehen.

Dieselbe Methode erlaubte auch Euglenen, Closterium Lunula, Gonium pectorale, Pediastrum und anderen Algen gute Vermehrung und hat zur Reinkultur von Oscillarien geführt. Sie dürfte besonders empfehlenswert sein, da weniger Bakterien wachsen als auf Agar und fast alle Vorteile desselben gewahrt bleiben. Wurden jedoch nach derselben Methode Platten von Gymnodinium und Cryptomonas angelegt, so zerflossen die Zellen im Momente, wo sie „aufs Trockene" gesetzt wurden.

Kulturen in Flüssigkeiten mit irgendwie erheblichen Mengen organischer Substanz hatten natürlich bei der Anwesenheit von Bakterien von vornherein nicht sehr viel Aussicht auf Erfolg, doch wurden immerhin folgende geprüft:

1. 0,5% Leucin + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
2. 0,1% Leucin + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
3. 0,2% weinsaures Ammon + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
4. Spur Albumin aus Eigelb + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
5. Erbsenabkochung.
6. 0,2% Galaktose + 0,1% KNO_3 + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
7. 0,2% Galaktose + 0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4.
8. Mit H_2SO_4 zerkochter und mit $CaCO_3$ neutralisierter Agar[1]) + 0,1% NH_4NO_3 + 0,05 $MgSO_4$ + 0,05 K_2HPO_4.

Closterium wuchs auch in keiner dieser Lösungen. Cosmarium vermehrte sich in 5. ziemlich lebhaft und bildete schließlich einen gelblich-grünen Satz, in dem aber natürlich viele Bakterien waren. Auch 2. zeigte, wenn auch schwache, Vermehrung. Das Resultat ist nicht sehr ermutigend.

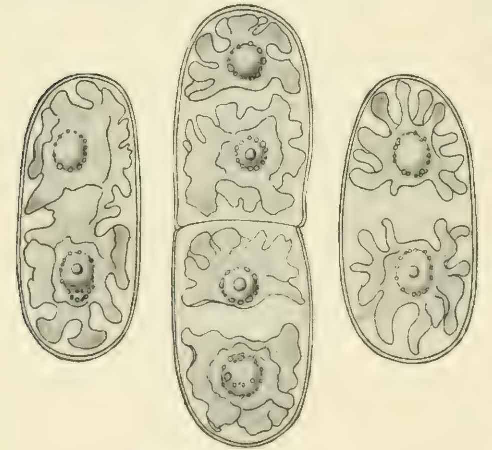
---

[1]) Es konnten möglicherweise Produkte der Hydrolyse des Agars dessen günstige Wirkung bedingen. Deshalb wurde durch Kochen mit Schwefelsäure eine vollkommen flüssige Agarlösung erzielt und deren Wirkung geprüft. (Siehe oben S. 310.)

Im ganzen ist es mir nicht gelungen, für Closterium überhaupt außerhalb des Agars eine deutliche Vermehrung zu erzielen, während Cosmarium unter Umständen, besonders in Erdabkochung, sowie in stark verdünnter Lösung mit giftfrei destilliertem Wasser wuchs und sich auch in faulenden Lösungen zu vermehren vermochte. Die Frage, weshalb gerade der Agar so günstig ist, bleibt noch offen.

Neben den genauer verfolgten traten auch noch einige andere Desmidiaceen im Laufe der Zeit in meinen Kulturen auf, immer aber relativ kleine Formen, so eine andere kleine Closterium-Art und ein Cosmarium. Ferner auf einer Platte mit gew. Amph. Agar, die mit einer Algenprobe aus Tölz in Oberbayern beimpft war, eine Form, die dem Staurastrum pygmaeum Bréb. gleicht (Wille 1892, Tafel LIII) und die die Photographien 2 und 3, Tafel X, veranschaulichen.

Schließlich möchte ich hier eine Mesotaeniacee anschließen, Cylindrocystis Brébissonii Ralfs, die zuerst in ungewässertem Agar mit Ammonphosphat gewachsen ist. Geimpft worden war aus einer kleinen Algenprobe, die aus einem klaren Bache bei Tölz in Oberbayern stammte.


[Cylindrocystis Brébissonii.

In der ersten Petrischale, die am 14. September 1911 angelegt worden war, kamen bis 20. Januar 1912 einige Protococcoideen, Euglena viridis, Scenedesmus, Raphidieen, Cyanophyceen etc. Daneben zeigten sich lebhafte maigrüne rundliche Kolonien, von denen eine in Figur 9, Tafel IX abgebildet ist. Bei stärkerer Vergrößerung boten die Zellen das in Fig. 4, Tafel X wiedergegebene Bild, erwiesen sich also als Cylindrocystis Brébissonii. Da die Figuren von de Bary[1]) die eigenartige Form der Chromatophoren nur unvollkommen wiedergibt, füge ich eine stark vergrößernde Zeichnung bei.

In den Platten, die von diesem Material gegossen worden waren, zeigte sich lange keine Vermehrung, die aber schließlich doch eintrat. Freilich bekam ich nicht mehr so große und auch nicht mehr so gleichmäßig ausgebildete Kolonien wie in der Ausgangsschale.

[1]) A. de Bary, Untersuchungen über die Familie der Conjugaten. Leipzig 1858.

Von der ersten Platte in ungew. Amph. Agar vom 14. September wurden am 20. Oktober zwei weitere mit derselben Agarmischung gegossen. Am 6. Januar in der einen nichts grünes, in der anderen neben zahlreichen winzigen Bakterienkolonien auch Cylindrocystis. Kolonien klein, vielleicht 20 Individuen, nicht kreisrund wie die ersten.

Wieder von der ersten Platte vom 14. September 1911 wurde am 20. Oktober in gew. Agar mit 0,1% $(NH_4)_2H_4PO_4$, 0,025% $MgSO_4$ und 0,05% KH_2PO_4 geimpft, der also schwach sauer war. Am 6. Januar 1912 nur Diatomeen. Von derselben am 4. November 1911 in schwach alkalisch gemachten gewässerten Agar mit Ammonphosphat. Am 6. Januar 1912 nur Pilze. Von derselben am 19. Dezember 1911 in neutralem gew. Amph. Ag. geimpft. Am 6. Januar 1912 ist nichts gewachsen. Von derselben am 23. Januar 1912 zwei Verdünnungen a und b mit neutralem gew. Amph. Agar gegossen. Am 16. Februar 1912 zeigen sich kleine gut aussehende Kolonien, die sich bis jetzt (31. Mai 1912) langsam weiter entwickelt haben. Eine davon gibt die Photographie Figur 5, Tafel X wieder.

Das Wachstum ist also sehr langsam, aber anhaltend. Die Zellen sehen dabei normal aus. Kulturen in verschiedenen Flüssigkeiten und auf Gips mit Erdabkochung und Ammoniumphosphat sind bisher nicht angegangen.

Dagegen wuchs auch Cylindrocystis in dopp. dest. W. mit Ammoniummagnesiumphosphat. Der Versuch wurde wie der für Cosmarium vom 8. Juni am selben Tage angestellt und geimpft aus einer Petrischale mit gew. Ammonphosphatagar vom 23. Januar 1912.

Am 1. Juli 1912 hat sich nun in dem Kolben mit $NH_4MgPO_4 + K_2SO_4 + CaSO_4 + Fe_2(PO_4)_2$ in dopp. dest. Wasser etwas entwickelt, und zwar sehr kleine, schöngrüne Kolonien am Boden des Gefäßes.

Am 25. August 1912 ist diese Kultur sehr hübsch gewachsen. Etwas von den Algen als kleine Häutchen an der Wasserfläche, das meiste am Boden. Mikroskopisch zeigen sich die Zellen vollgepfropft mit Stärke und viele unter ihnen sind in verschiedenen Stadien der Kopulation, worüber noch berichtet werden soll. Entsprechend verhielten sich andere, ebenso hergestellte Kulturen.

Im ganzen sind leider bei den Kulturversuchen mit Desmidiaceen die positiven Resultate noch nicht sehr groß. Es gelang weder die absolute Reinkultur noch die Auffindung einer für alle Arten brauchbaren Nährlösung, die aber möglicherweise mit der letzterwähnten gegeben ist. Ob mit anderen Lösungen ein schnelleres Wachstum erzielt worden wäre, bleibt fraglich. Die Langsamkeit der Vermehrung aber ist wohl der Grund, daß die völlige Trennung von anderen Organismen nicht gelang.

Insofern stimme ich mit Andreesen[1]) überein, als eine Zufuhr organischer Stoffe wohl für viele Arten nützlich für das Ge-

---

[1]) A. Andreesen, Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceen. Flora 1909, Bd. 99, S. 40.

deihen sein dürfte. Die von jenem Autor gefundene Förderung durch Amide konnte ich nicht konstatieren, dagegen erwiesen sich bei Cosmarium Humusstoffe als stark fördernd, ferner bei den im Agar gedeihenden Arten Stoffe aus diesem. Für die verwendete Cosmariumart konnten verschiedene gut brauchbare Kulturflüssigkeiten angegeben werden, für Cylindrocystis wenigstens eine. Die Versuche werden fortgesetzt.

Über die übrigen im Agar gewachsenen grünen Formen ist nicht viel zu sagen. Sehr häufig und üppig traten Hormidium-Formen auf, über die früher Klebs[1]) berichtet hat. Sie wachsen auch in allerlei Nährlösungen und werden durch Erdeauszug gleichfalls gefördert. Ähnlich allerlei grüne Algen, die in Agar verzweigte Kolonien bilden. Eine davon war wohl Microthamnium Kützingianum Nägeli, eine andere Pleurococcus vulgaris. Die Kolonieformen dieser Algen im Agar sind sehr charakteristisch.

Sehr häufige Gäste waren Chlamydomonasarten, von denen eine stark schleimbildende weiter verfolgt und rein kultiviert wurde. Dasselbe gilt für Haematococcus pluvialis, über welche beiden später berichtet werden soll. Alle diese Volvocineen wachsen gut in Erdeauszug mit Kalisalpeter oder Ammonsulfat.

Mit den massenhaft wachsenden Diatomeen habe ich mich nicht weiter beschäftigt, weil die Arbeiten von O. Richter das Wesentliche aufgeklärt haben.

Über die rein gezüchtete Euglena gracilis wird in der nächsten Mitteilung berichtet werden. Neben den genauer verfolgten Formen, nämlich Euglena gracilis, viridis und deses wuchsen auch verschiedene andere Arten, unter anderem ein Phacus, jedenfalls Ph. pleuronectes, und verschiedene Euglenen, so E. variabilis. Sie scheinen alle ähnliche Kulturbedingungen zu fordern, nur daß sie in verschieden hohem Maße der Verarbeitung organischer Stoffe angepaßt sind. Phacus pyrum wuchs z. B. in Erdabkochung, in der sich übrigens auch eine Gymnodiniumart vermehrte.

Damit wären meine bisherigen Erfahrungen bis auf die in Reinkultur gezüchteten Algen, über die später berichtet werden soll, niedergelegt. Die Versuche haben trotz vieler darauf verwendeter Mühe zum größten Teile nicht zum Ziele der Reinkultur geführt. Vielleicht können die hier mitgeteilten Ergebnisse aber doch einen Wert für spätere Untersuchungen haben. Deshalb wollte ich sie nicht ganz unterdrücken.

---

[1]) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.

Figurenerklärung.

Siehe den Text.

Tafel IX.

Figur 1, zu Seite 317.	Leitz, Obj. 4, Comp. Oc. 8.	Vergrößerung 195.
„ 2, „ „ 320.	(Zur Diagnose.) Leitz, Immers. $^1/_{12}$ a, Comp. Oc. 8	Vergr. 1070.
„ 3, „ „ 320	(Zur Diagnose.) Zeiß, Apochr. 2 mm, Comp. Oc 4.	„ 550.
„ 4, „ „ 322.	Reichert, Obj. 3, Oc. 5.	Vergrößerung 110.
„ 5, „ „ 322.	Reichert, Obj. 3, Oc. I.	
„ 6, „ „ 323.	Reichert, Obj. 3, Oc. I.	„ 50.
„ 7, „ „ 325.	Reichert, Obj. 3, Oc. I.	
„ 8, „ „ 326.	$^2/_3$ der natürl. Größe.	
„ 9, „ „ 328.	Reichert, Obj. 3, Oc. I.	„ 50.

Tafel X.

Figur 1, zu Seite 324.	Schwach vergr., seitlich beleuchtet auf dunklem Hintergrunde.	
„ 2, „ „ 328.	Reichert, Obj. 3, Oc. I.	Vergrößerung 50.
„ 3, „ „ 328.	Leitz, Obj. 4, Comp. Oc. 8.	„ 195.
„ 4, „ „ 329.	Leitz, Obj. $^1/_{12}$ a, Comp. Oc. 8.	„ 1070.
„ 5, „ „ 329.	Leitz, Obj. 4, Oc. 1.	„ 104.



Beiträge zur Physiologie der farblosen Schwefelbakterien.

Von **Friedrich Keil.**

I. Einleitung.

Ältere physiologische Untersuchungen und Anschauungen über die Ernährung von Schwefelbakterien.

Die eigentümliche, physiologisch überaus interessante Gruppe der Schwefelbakterien ist, seit Cramer[1]) 1870 zeigte, daß die dunkeln, stark lichtbrechenden Körnchen in den Bakterienzellen aus Schwefel bestehen, mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen.

Meist beschränken sich die Arbeiten[2]) auf morphologische und entwicklungsgeschichtliche Darstellungen, sowie einige theoretische Betrachtungen über die Bedeutung des Schwefels für die Lebensvorgänge der Bakterien. Erst Winogradsky unterzog die Schwefelbakterien, besonders die Gattungen Beggiatoa und Thiothrix einer eingehenden morphologischen und physiologischen Untersuchung, deren Ergebnisse er in mehreren Arbeiten niederlegte[3]). In der ersten, für die Physiologie der Schwefelbakterien grundlegenden Abhandlung faßt er die Ergebnisse folgendermaßen zusammen: „1. Sie (die Schwefelbakterien) oxydieren Schwefelwasserstoff und speichern Schwefel in Form von kleinen Kügelchen auf, welche aus amorphem weichem Schwefel bestehen und innerhalb der lebenden Zellen nie in den kristallinischen Zustand übergehen. 2. Sie oxydieren diesen Schwefel zu Schwefelsäure, welche durch die aufgenommenen Carbonate gleich neutralisiert und in Form von Sulfaten ausgeschieden wird. Es werden also durch ihre Tätigkeit die Carbonate des Substrats in Sulfate umgewandelt

---

[1]) Christian Müller, Chemisch-physik. Beschreibung der Thermen von Baden i. d. Schweiz. 1870.

[2]) Ferdinand Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 1, Heft 3. 1875. Lothar Meyer, Journal für praktische Chemie. Bd. 91. 1864. Weitere Literat. s. Winogradsky.

[3]) Sergius Winogradsky. I. Über Schwefelbakterien. 1887. Bot. Ztg. 45. Jahrg. II. Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien I. Schwefelbakterien. Leipzig 1888. III. Recherches sur les sulfobactéries. Ann. de l'Institut Pasteur 1883. 3ième année. No. 2.

3. Ohne Schwefel werden Ernährungsprozesse und Bewegung sistiert und es tritt früher oder später der Tod, bei einigen vielleicht ein Ruhezustand (?) ein. 4. Sie können leben und sich sehr üppig vermehren in einer Flüssigkeit, die nur Spuren von organischen Substanzen enthält, von denen andere chlorophylllose Organismen nicht leben können."

Die ersten drei Punkte dieser Zusammenfassung, die die Schwefeloxydationsprozesse angehen, hat man auch in der Folge als richtig anerkannt. Was aber den vierten Satz anbetrifft, so sind, angeregt durch Beobachtungen an anderen Bakterienformen, weitergehende Hypothesen aufgestellt worden. Den schärfsten Ausdruck finden diese wohl bei Jost[1]. Er sagt: „Wenn wir jetzt nach Besprechung der Nitrobakterien zurückblicken auf die Verhältnisse, die wir bei den farblosen Schwefelbakterien angetroffen haben, so erscheinen uns diese in einem ganz neuen Licht. Nicht nur die Veratmung von NH_3 einerseits und SH_2 andererseits springt in die Augen, sondern auch der schlechte Erfolg organischer Nährstoffe bei Beggiatoa gibt zu denken. Es ist im höchsten Grade wahrscheinlich (Winogradsky 1890, S. 275), daß auch die Schwefelbakterien autotrophe Organismen sind, und daß sie bei vollkommenem Ausschluß organischer Nährstoffe besser gedeihen, als mit den ihnen gebotenen schlechten Nährstoffen." Ähnlich äußert sich Benecke[2]: „Die Autotrophie des Kohlenstoffes bei Bakterien, d. h. die Assimilation der Kohlensäure, ist zum ersten Male durch Winogradsky festgestellt worden. Der erste, der die Wahrscheinlichkeit betonte, daß auch noch andere Bakterien mit »mineralischer Atmung« Kohlensäure zu reduzieren vermöchten, ist wohl Godlewski. Zu diesen würden wahrscheinlich die Eisenbakterien und die Schwefelbakterien zu rechnen sein, von denen allerdings bis jetzt erst feststeht, daß sie in bezug auf die Kohlenstoffquelle sehr anspruchslos sind." Weiter dann noch: „Obligat stickstoffautotroph sind voraussichtlich auch ferner die Beggiatoen, Thiothrixarten und andere von Winogradsky studierte Schwefelbakterien."

Wenn man nun die Winogradskyschen Untersuchungen über die Bedeutung des Schwefels für die Lebensäußerungen der Schwefelbakterien als noch heute geltend anerkennen muß, so weisen sie doch einen großen Mangel auf. Er arbeitete ausschließlich mit Objektträgerkulturen, die wohl zu einer Orientierung recht gut geeignet sein mögen, aber vor allen Dingen nie eine völlige Reinheit der Kulturen erreichen lassen; außerdem verwendete er Nährlösungen von nicht ge-

---

[1]) Ludwig Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Jena 1908.

[2]) Franz Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Erster Band. Jena 1904—1907.

nau bekannter Zusammensetzung, in denen kleine Mengen organischer Stoffe zugegen waren. So ist es ihm nicht gelungen, die physiologischen Verhältnisse vollkommen klarzustellen.

II. Vorkommen und Ernährung der Schwefelbakterien.

Ich habe mich nun bemüht, die oben angedeuteten Fragen über die Physiologie der Schwefelbakterien zu lösen. Meine Arbeit, die ich auf Veranlasung des Herrn Prof. Dr. Karsten unternommen habe, baut sich im wesentlichen auf den oben angeführten Ergebnissen der Winogradskyschen Untersuchungen auf.

1. Vorkommen der Schwefelbakterien in der Natur und Anordnung der Rohkulturen.

Bei Beginn meiner Untersuchungen bemühte ich mich, Beggiatoa-Rohmaterial auf die von Winogradsky[1]) angegebenen Weise mit Butomusrhizom, Gips und Wasser in hohen Glaszylindern zu erhalten. Nie habe ich auf diese Weise für meine Zwecke brauchbare Resultate erzielen können; standen die Kulturen im Licht, so trat eine lebhafte Entwicklung roter Bakterien ein. Im Dunkeln zeigte sich überhaupt keine Entwicklung von Schwefelbakterien.

Dagegen bot ein Abflußgraben der Weißenfelser Papierfabrik, dessen Grund eine dicke Schicht schwarzen Schlammes aufweist, große Mengen von Schwefelbakterien, die oft weite Strecken mit einem weißen Filz überzogen. Ende Mai 1911 entwickelten sich dann auch an den Ufern der Saale, so weit diese mit Schlamm überzogen waren, außerordentlich reiche Mengen von Beggiatoa und Thiothrix. Von dem so gebotenen Material habe ich Rohkulturen auf folgende Weise hergestellt. Auf den Boden einer 3—4 cm hohen Glasschale wurde eine Schicht schwarzen, schwefelbakterienhaltigen Schlammes gebracht und darüber 2—3 cm hoch Wasser gegossen. Anfangs wurde Saalewasser, nachdem es von den gröbsten Verunreinigungen durch mehrmalige Filtration befreit war, verwendet. In solchen Kulturen entwickelte sich dann in kurzer Zeit eine üppige Schwefelbakterienvegetation. Eigentümlich war es, daß durch irgend einen Zufall die beiden von mir behandelten Bakteriengruppen selten im gleichen Gefäß wuchsen. Beggiatoa (Speziesunterscheidung blieb unberücksichtigt, da alle nur durch ihre Dicke unterschiedenen Formen sich physiologisch gleich verhielten) bildete stets einen rein weißen mehrschichtigen Überzug über dem Schlamm. Einzelne Fädchen vereinigten sich dann wohl auch zu kleinen Klümpchen, die in die Flüssigkeit hineinragten. Auch der Rand der Schalen, soweit er mit Wasser bespült wurde, war meist von schönen, reinen

[1]) cf. S. 1, 3. I.

Netzen überzogen. Etwas anders war das Aussehen der Thiothrix-Kulturen. (Für die verschiedenen Spezies von Thiothrix gilt das gleiche wie bei Beggiatoa.) Diese bildeten keine so schönen, weißen Netze. Der Schlamm war ganz von einem grau-weißen Filz überzogen und dann, was äußerst charakterisch ist, war die ganze Flüssigkeitsoberfläche mit zahlreichen Kolonien von Thiothrix bedeckt, die im Gegensatz zu den Beggiatoen nicht auf der ganzen Fadenlänge krochen, sondern mit einem Ende dauernd festgeheftet blieben. Die Haftscheiben waren an Salzkristallen oder kleinen schwebenden Schlammteilchen befestigt, und die freien Fadenenden ragten in das Wasser hinein. Als wesentlich erwies sich noch, die Kulturen im Dunkeln zu halten, da auf diese Weise kein Wachstum der störenden Oscillarien stattfand. Dies trifft jedoch nicht zu für die Wintermonate, wo die Lichtenergie am Nordfenster nicht hinreichte, um den Oscillarien genügende Assimilation zu ermöglichen. In den eben beschriebenen Kulturen habe ich Schwefelbakterien Sommer und Winter in reichen Mengen zur Verfügung gehabt. Erforderlich war es nur, von Zeit zu Zeit frisches, kohlensaure Salze anhaltendes Wasser hinzuzufügen. Eine ähnliche Kulurmethode beschreibt Molisch[1]). Er beschickt ein Glasgefäß 2 bis 3 cm hoch mit schwärzlichem Sumpfschlamm, übergießt ihn mit Leitungswasser und fügt eine Hand voll getrockneter Elodeasprosse und auf einen Liter Wasser einen halben Teelöffel voll Gips hinzu.

Die Schwefelbakterienvegetation im Freien blieb während der heißen Sommer- und Herbstmonate immer gleich schön; erst gegen Ende des Jahres, als die Wassertemperatur stark sank, trat ein allmähliches Zurückgehen des weißen Uferbelages ein. Man konnte dann oft beobachten, wie die Beggiatoen sich, in dichte Stränge gelegt, in die tieferen Schlammschichten zurückzogen. Es mag dies wohl seinen Grund in der verringerten Schwefelwasserstoffproduktion des Schlammes haben. In diesem Zustand hielten sich ziemlich beträchtliche Mengen von Schwefelbakterien während der kühlen Jahreszeit; denn wurde selbst unter dem Eise hervor etwas Schlamm geholt und in den warmen Arbeitsraum des Instituts in Rohkultur gebracht, so war binnen zweier Tage der schönste weiße Überzug vorhanden. Mitte April 1912 bei 10—15° Wasserwärme bildeten die Schwefelbakterien wieder deutlich sichtbare Rasen am Saaleufer.

Einige recht interessante Beobachtungen gestattete auch eine künstliche Schwefelquelle, welche ich im Keller des Instituts nach den von Winogradsky[2]) gemachten Angaben herrichtete. Als Kulturgefäße benutzte ich zwei Holzkübel, sonst habe ich bis auf einige

[1]) Hans Molisch, Centralblatt für Bakteriologie etc. 2. Abt. 33 Bd. Jena 1912.
[2]) cf. S. 1. 3 I, S. 537.

unwichtige Einzelheiten genau die gleiche Versuchsanstellung verwendet wie Winogradsky. In dieser Schwefelquelle habe ich Schwefelbakterien vom 19. Oktober 1911 bis Ende März 1912 gezogen. Als Ausgangsmaterial brachte ich in den einen Kübel ein Schälchen mit Beggiatoa und einige Butomusrhizomstücke. Nach einigen Wochen hatten sich die Beggiatoen etwas vermehrt, jedoch nur ganz wenig; auf dem Holz des Kübels, soweit es von Wasser bespült wurde, zeigte sich aber ein weißlicher, flutender Belag, den ich bei näherer Untersuchung als eine sehr üppige Thiothrixvegetation erkennen konnte. Eine reichere Vermehrung der Beggiatoen trat erst ein, als das Wasser aus dem ersten Kübel in einen zweiten, weit flacheren, übergeleitet wurde. In kurzer Zeit war in letzterem der Boden und teilweise auch die Wände mit einem sehr dichten Beggiatoanetz überzogen. Das so vorhandene Schwefelbakterienmaterial zeichnete sich durch große Reinheit aus, ohne jedoch den Anforderungen einer vollkommenen Reinkultur zu genügen. Besonders Infusorien bildeten die ständigen Begleiter der Schwefelbakterien.

Das eigenartige Verhalten der beiden Schwefelbakterienformen in den Holzkübeln läßt sich mit den von Winogradsky an natürlichen Schwefelquellen gemachten Erfahrungen[1]) leicht erklären. Die als Ausgangsmaterial in den tiefen Kübel gebrachten Beggiatoen fanden dort nicht die ihnen zusagende Sauerstoffmenge, die Thiothrixfäden dagegen sind gegenüber Schwankungen der Gasspannung nicht so empfindlich, außerdem mag auch der Wasserstrom in dem ersten Kübel etwas stark gewesen sein, so daß die Beggiatoen sich nur schwer halten konnten, während die außerordentlich festsitzende Thiothrix gerade hier ihre günstigen Lebensbedingungen fand. Die für Beggiatoa ungünstigen Einflüsse waren in dem zweiten Gefäß nicht vorhanden. Das Wasser wurde von der Oberfläche aus zugeführt und auch gleich nahe der Zuflußstelle wieder abgeleitet. Bei der so erreichten Scheidung der Schwefelbakterien blieb es während der ganzen Zeit der Kulturdauer, die man wohl beliebig lange hätte ausdehnen können. Da es für die Frage nach der Bedeutung des Lichtes für Schwefelbakterien von Interesse ist, will ich gleich hier einfügen, daß die Holzkübel fast unter vollständigem Lichtabschluß standen.

2. Ernährung der farblosen Schwefelbakterien.

Lange Zeit habe ich mich vergeblich bemüht, die Schwefelbakterien in Reinkultur zu bekommen. Dies mag zum Teil seinen Grund in der bei den Isolierungsversuchen angewendeten mechanischen Reizung, wie auch in den zum großen Teil noch unerforschtem Er-

[1]) cf. S. 1. 3, I, S. 530.

nährungsbedingungen gehabt haben. Somit war es notwendig, zunächst die Bedingungen für das Leben der Schwefelbakterien festzustellen. Auf Vorschlag von Herrn Dr. Pringsheim suchte ich durch Herstellung einer geeigneten schwefelwasserstoffhaltigen Atmosphäre das Wachstum der Schwefelbakterien zu fördern.

Bei den nun zu beschreibenden Versuchen ging ich von der Überlegung aus, daß es möglich sein müsse, ein Gasgemisch herzustellen, welches den Schwefelbakterien das Leben ermöglicht. Daß Schwefelwasserstoff und Sauerstoff unbedingt notwendig sind, unterlag keinem Zweifel, auch die günstige Wirkung von Kohlensäure war nach den oben mitgeteilten Anschauungen sehr wahrscheinlich gemacht. So handelte es sich nur noch darum, die geeignete Versuchsanordnung zu finden.

3. Methodik.

Die Lösung der weiter unten zu beschreibenden, physiologischen Einzelfragen gelang mit Hilfe des folgenden Apparates: In den Tubus einer am unteren Rande abgeschliffenen Glasglocke wurde ein doppelt durchbohrter Gummistopfen fest eingedrückt. Durch die eine Bohrung führte ein Glashahn, durch die andern ein gebogenes Glasrohr, beide ragten ein kurzes Stück in die Glocke hinein. Über den Gummistopfen wurde dann eine Schicht Quecksilber gebracht und das Ganze mit einem Siegellackmantel überzogen, so daß ein luftdichter Abschluß erreicht war. Um eine Glasdiffusion aus dem Gummi zu vermeiden, erhielt die Innenseite des Stopfens einen ziemlich starken Paraffinüberzug. Die Außenseite des offenen Rohres trug mit Hilfe eines kurzen Stückes Luftpumpenschlauch ein abgekürztes Barometer. Um Ungenauigkeiten zu vermeiden, war das Stück des an den inneren Luftraum grenzenden Gummis möglichst klein gemacht. Der untere Rand der Glocke, mit einer dünnen Schicht Luftpumpfenfett versehen, wurde auf eine mattgeschliffene Glasplatte aufgesetzt. Zum Auspumpen der Glocken diente eine Ölluftpumpe. Unter solche Glocken wurden dann die Kulturen gebracht. Diese waren folgendermaßen hergestellt: Als Kulturgefäße dienten Petrischalen, in welchen sich eine kleine Menge Nährflüssigkeit befand. In diese wurden dann ein kleines Flöckchen, bei dickeren Formen[1]) einzelne Fäden von Schwefelbakterien eingeimpft. Unter jeder Glocke befanden sich 5—6, in der letzten Zeit 10 solcher Schalen. Als Nährflüssigkeit für die Kulturen diente im Anfang das Wasser der Langenbrücker Schwefelquelle „Waldquelle“, welches auch Winogradsky bei seinen Untersuchungen verwendete. Weitere Nährflüssigkeiten werden an geeigneter Stelle

[1]) Die Dicke der von mir untersuchten Bakterien schwankte bei Beggiatoa zwischen 1 μ und 5 μ, bei Thiothrix zwischen 1 μ und 2,5 μ.

besprochen werden. Die Herstellung der Kulturatmosphäre geschah auf folgende Weise. Zunächst wurde die Luft aus den Glocken bis zu einem gewissen Druck entfernt, um die Partiärpressung des Sauerstoffes auf einen günstigen Betrag zu bringen. Dann wurde Schwefelwasserstoff[1]) mit Kohlensäure in einem vorher berechneten Verhältnis gemischt. Die Mischung fand statt, weil die geringen Schwefelwasserstoffmengen, die vertragen werden, keine direkte Ablesung am Barometer gestatteten. Ich benutzte dabei folgende recht bequeme Methode: In einen weiten, mit Wasser gefüllten Glaszylinder wurde ein Meßzylinder umgekehrt hineingestülpt. Bis zu dem Boden des umgekehrten Gefäßes führte ein U-förmig gebogenes Rohr mit ausgezogener Spitze. An dem äußeren freien Ende war ein Stück Gummischlauch mit einem Quetschhahn befestigt. In diesem Gasometer mischte ich ein kleines, genau bekanntes Volumen Schwefelwasserstoff (die Zahl der Kubikzentimeter ließ sich leicht am Meßzylinder ablesen) mit einem weit größeren Volumen Kohlendioxyd. Dieses Gemenge beließ ich einige Minuten im Gasometer, um eine gleichmäßige Vermischung der Gase zu erreichen. Darauf wurde eine, je nach dem Volumen des zu füllenden Kulturraumes verschiedene Menge in die Glocken abgesogen. Der so in der Kulturatmosphäre geschaffene Partiärdruck beider Gase ließ sich durch vergleichende Messungen mit größeren Gasmengen und Umrechnung feststellen. Der in der Glocke dann noch verbliebene Unterdruck mußte durch ein indifferentes Gas ausgeglichen werden, denn die Kulturen gediehen, wie sich später zeigte, bei einem Unterdruck von mehreren hundert Millimetern nicht. Bei den Versuchen wurde zum Ausgleich Wasserstoff aus einer Bombe benutzt, und zwar erfolgte eine Auffüllung bis auf wenige Millimeter Unterdruck, welche belassen wurden, um ein Loslösen der Glocken bei Temperaturschwankungen zu vermeiden. Die verwendeten Petrischalen erwiesen sich als recht brauchbar, denn die Deckel schlossen nie so dicht, um einen Gasausgleich zu verhindern und ermöglichten doch ein sauberes Arbeiten, da fremde Keime nicht hineingelangen konnten.

4. Bestimmung der für die Schwefelbakterien günstigen Partiärdrucke von Sauerstoff und Schwefelwasserstoff.

In dem Langenbrücker Schwefelwasser stand mir eine Nährflüssigkeit zur Verfügung, die, wie aus Winogradskys Versuchen hervorgeht, dem Mineralstoffbedürfnis der Schwefelbakterien genügt. Ich konnte daher meine Aufmerksamkeit zunächst auf die Bestimmungen

---

[1]) H_2S wurde aus FeS und verdünnter H_2SO_4 im Kippschen Apparat hergestellt. Vor dem Gebrauch wurde er sorgfältig mit Wasser gewaschen. Ebenso die aus Marmor und verdünnter HCl hergestellte CO_2.

der Partiärdrucke richten, unter welchen Sauerstoff und Schwefelwasserstoff am günstigsten auf das Wachstum der Schwefelbakterien einwirken. Zunächst soll hier die Bestimmung des geeigneten Sauerstoffdruckes eingehender besprochen werden. Eine Trennung der Darlegungen für Sauerstoff und Schwefelwasserstoff machte sich der Übersichtlichkeit halber notwendig, in Wirklichkeit verliefen ja, wie auch weiter unten Tabellen und Protokolle zeigen werden, die diesbezüglichen Untersuchungen völlig nebeneinander. Da sich für die Größen der Partiärdrucke fast keine Anhaltspunkte boten, wurden zunächst bei den einzelnen Versuchen die Bedingungen möglichst verschieden gestaltet, um ungefähr ein Bild der gesuchten Grenzen zu erhalten.

Die Bestimmung der oberen Grenze des Sauerstoffdruckes gestaltete sich verhältnismäßig einfach. Brachte man eine Petrischale mit einem frisch eingeimpften Flöckchen Beggiatoa in Langenbrücker Wasser unter eine der Kulturglocken, so war ein zu hoher Sauerstoffdruck in der hergestellten Atmosphäre leicht zu bemerken. Das Beggiatoaklümpchen ballte sich dann ganz dicht zusammen und schwamm in der Flüssigkeit. Ging man mit dem Sauerstoffdruck tiefer, so war zu bemerken, wie bei ungefähr 100 mm Luftdruck = 20 mm Sauerstoffdruck die Klümpchen sich langsam zu lösen und die Fäden auf dem Boden der Petrischale zu kriechen begannen. Wenn an Stelle der atmosphärischen Luft reines Sauerstoffgas verwendet wurde, zeigte sich bei ungefähr 20 mm Druck, also bei demselben Sauerstoffdrucke wie in 100 mm Luft, die eben beschriebene Auflösung der Beggiatoaknäuel. Etwas langwieriger als diese Festlegung der oberen Partiärdruckgrenze gestaltete sich die der unteren, denn hierbei bot sich kein so leicht erkennbares Zeichen, in welcher Weise eine gegebene Sauerstoffspannung wirkte, ob sie günstig oder zu niedrig war. Es mußten dann die Wachstumserscheinungen den Ausschlag geben. Zu starke Abweichungen von der unteren Grenze riefen bei Beggiatoa Zerfall der unter günstigen Verhältnissen sehr langen Fäden in kurze, wenige Zellen enthaltende Stücke hervor, die völlig unbeweglich waren. (Die Kontrolle der Kulturen wurde mit Hilfe des Mikroskopes ausgeführt. Meist wurde der Schalendeckel ohne besondere Vorsichtsmaßregeln abgehoben, bei reineren Kulturen wurde eine dünne Glasplatte zum Schutz verwendet; in der letzten Zeit unterblieb jedoch auch dies.) Mittels der beschriebenen Beobachtungen gelang es schließlich, als untere Grenze des Sauerstoffpartiärdruckes die in 50 mm Luft vorhandene Sauerstoffmenge (10 mm reines Sauerstoffgas) festzulegen. Am vorteilhaftesten erwies sich im weiteren Verlauf der Untersuchungen der Mittelwert zwischen den beiden Grenzen, d. i. ein Sauerstoffdruck von 15 mm = 75 mm Luftdruck.

Durch Beobachtungen, die denen zur Bestimmung des Sauerstoffdruckminimums ähnlich waren — die Reaktion bestand hier ebenfalls in dem Zerfall der Fäden in kurze Stückchen bei zu hohem und zu tiefem Druck —, gelang es auch, die Grenzen des zum Leben der Schwefelbakterien erforderlichen Schwefelwasserstoffdruckes festzulegen. Besonders die Kulturen mit den sehr empfindlichen Beggiatoen erleichterten diese langwierigen Untersuchungen ganz wesentlich und gaben auch einen Anhalt für die Experimente mit Thiothrix. Bei dieser Form konnte nur das Wachstum eine Entscheidung geben, doch sind die Grenzen von denen für Beggiatoa nicht sehr verschieden, höchstens um einige Millimeter nach oben und unten weiter. Umrechnungen der im Raummaß festgestellten Schwefelwasserstoffmengen ergaben Druckgrenzen von 0,6 und 1,7 mm. Der günstigste und daher weiterhin meist verwendete Druckwert lag für beide Organismen bei 0,8 mm. (Dies bedeutet auf eine Glocke von 4500 ccm Volumen eine Schwefelwasserstoffmenge von 5 ccm.)

5. Bedeutung der Kohlensäure für die Physiologie der farblosen Schwefelbakterien.

Nach den Darlegungen über die Bestimmung der Partiärdrucke von Sauerstoff und Schwefelwasserstoff soll in diesem Abschnitt die physiologische Bedeutung der Kohlensäure für die Schwefelbakterien besprochen werden. Als ich bei meinen ersten Untersuchungen über Schwefelbakterien in Objektträgerkulturen versuchte, das meist ohne besondere Vorbehandlung verwendete Langenbrücker Schwefelwasser durch Erhitzen zu sterilisieren, fielen beträchtliche Mengen von Salzen aus. Benutzte ich derart behandeltes Wasser bei meinen Kulturversuchen, so waren die Resultate stets schlecht, die Schwefelbakterien starben ab, so oft auch die Lösung erneut wurde. Ebenso verhielt es sich bei den weiter unten zu besprechenden künstlichen Nährlösungen. Ähnlich gestaltete sich die Sache, als anstatt der Sterilisation durch Erhitzen diejenige durch Filtration mit Hilfe von Tonfiltern[1]) angewendet wurde. (Dabei wurden dem Wasser beträchtliche Mengen darin gelöster Gase entzogen.) Auch in derart behandeltem Langenbrücker Wasser gediehen die Objektträgerkulturen nicht. Eine Erklärung für diese Mißerfolge brachten die Kulturen in den Glocken, wenn anstatt des Gemisches von Schwefelwasserstoff und Kohlensäure ein solches von Schwefelwasserstoff und Wasserstoff verwendet wurde. Trotzdem sonst alle übrigen Verhältnisse genau die gleichen waren,

[1]) Nähere Angaben über Sterilisationsverfahren siehe bei Ernst Küster, Kultur der Mikroorganismen. 1907. S. 50.

wie gewöhnlich, gingen die Kulturen in wenigen Tagen ein. Dieses Ergebnis wies darauf hin, daß das Fehlen der Kohlensäure Ursache des Absterbens war. Man mußte danach annehmen, daß die in den 75 mm Luft verbliebene Kohlensäuremenge zur Ernährung der Schwefelbakterien zu gering war.

Um aber völlig sichere Grundlagen für meine Annahme der Kohlensäurenotwendigkeit zu haben, stellte ich weitere Versuche an. So weit als möglich entfernte ich die Luft aus den Kulturglocken und ließ kohlensäurefreie Luft dafür einströmen. Die Befreiung der Luft und zuletzt des Wasserstoffes von der Kohlensäure geschah mittelst Leiten der Gase durch mehrere Röhren, die mit konzentrierter Kalilauge getränkte Bimssteinstücke enthielten und eine ebenfalls Kalilauge enthaltende Waschflasche. Das starke Auspumpen und Auffüllen ohne CO_2 wiederholte ich 2 bis 3 Mal um eine möglichst kohlensäurefreie Atmosphäre zu erzielen. Nach dem letzten Evakuieren wurde dann das Gemisch von Schwefelwasserstoff mit Wasserstoff eingeleitet, nachdem es durch eine Waschflasche mit einer konzentrierten Lösung von Schwefelkalium in Wasser gesogen war. Die K_2S-Lösung wurde angewendet, da sie wie die Kalilauge Kohlensäure absorbiert, nicht aber den Schwefelwasserstoff. Die in diesen Glocken befindlichen Kulturen zeitigten sehr merkwürdige Ergebnisse. Die meisten der Petrischalen enthielten nach kurzer Zeit durchweg tote Fäden; einige dagegen wiesen eigenartige Bildungen auf. Eine große Menge Fäden hatten sich in einem Kreis um gewisse Verunreinigungen angeordnet und hielten sich noch geraume Zeit lebend. Eine Erklärung dieser auffallenden Bilder ist unschwer zu geben. Wie man mikroskopisch leicht erkannte, lagen im Zentrum des Kreises zahlreiche fremde Organismen (Cyanophyceen, Infusorien), welche sicher bei ihrem Stoffwechsel im Dunkeln auch Kohlensäure mit abschieden; diese diente dann den Beggiatoen zur Assimilation. Die Erscheinung habe ich beliebig oft wiederholen können, indem ich in die Kulturen absichtlich Verunreinigungen brachte. Im ganzen habe ich vielleicht an 50 Kulturen, welche vorher in normal, d. h. mit Kohlensäure gefüllten Glocken vorzüglich gediehen, das Absterben unter den eben geschilderten Bedingungen beobachtet. Man könnte vielleicht einwenden, die Bakterien seien infolge der Vorbehandlung zugrunde gegangen; diesen Einwand kann ich wohl am besten dadurch widerlegen, daß ich, nachdem die Kulturen wie oben beschrieben vorbehandelt waren, zur Probe den Schwefelwasserstoff mit Kohlensäure gemischt hinzugab und dann stets sehr gute Kulturen erhielt. Auch an Thiothrixkulturen habe ich diese Versuche mit bestem Erfolg angestellt, ohne aber hier die Erhaltung durch die CO_2-Abgabe fremder Lebewesen beobachten zu können. Schließlich will ich auch noch erwähnen, daß Kulturen auf den Objektträger (nach Wino-

gradsky) recht gut gelangen, nachdem den oben erwähnten unbrauchbaren Nährflüssigkeiten Kohlensäure zugesetzt war.

Durch die eben dargestellten Untersuchungen ist wohl einwandsfrei erwiesen worden, daß die Schwefelbakterien zu ihrer Ernährung notwendig der Kohlensäure bedürfen. Jedenfalls kommen die in Spuren im Langenbrücker Wasser vorhandenen organischen Substanzen[1]) nicht als Kohlenstoffquelle in Betracht. Daß auch andere organische Stoffe nicht dafür verwendbar sind, werde ich weiter unten zu zeigen haben. Diese Ergebnisse stehen auch mit dem Vorkommen der Schwefelbakterien in der Natur sehr gut in Einklang. Das Wasser der Schwefelquellen ist stets sehr reich an gelöster Kohlensäure, und an anderen Orten kommen reiche Bildungen von Schwefelbakterien nur da vor, wo Fäulnisprozesse stattfinden, wo ihnen also H_2S und CO_2 neben mineralischen Stoffen in genügender Menge zur Verfügung stehen.

Bestimmungen für die Grenzen des Kohlensäurepartiärdruckes führten zu folgenden Ergebnissen. Die untere Grenze des unbedingt notwendigen Druckes ist ungefähr diejenige, welche dem Kohlensäuredruck der Luft (ungefähr 0,5 mm) entspricht. Als obere Grenze wird ein Druck von 350 mm CO_2 ertragen. Hierbei hefteten sich aber die Beggiatoa- und Thiothrixfäden nicht mehr an das Glas an. Die günstigste Beeinflussung der Wachstums- und Vermehrungsvorgänge erzielte ich, wenn das Gasgemisch ungefähr 25 mm Kohlensäuredruck hatte, jedoch wurden Schwankungen nach oben oder unten nicht als besonders schädigend empfunden.

Vergleicht man die Grenzen der Partiärdrucke für die einzelnen Gase, so liegen diese für Sauerstoff (10 und 20 mm), sowie für Schwefelwasserstoff (0,6 und 1,7 mm) recht nahe beieinander, während sie für Kohlensäure fast eine halbe Atmosphäre Unterschied aufweisen.

Nachdem so die Drucke bestimmt waren, unter welchen H_2S, O und CO_2 am günstigsten auf das Wachstum und die Vermehrung der farblosen Schwefelbakterien einwirken, boten sich kaum noch Schwierigkeiten, diese Lebewesen in Petrischalen beliebig lange zu züchten. Als Beleg für die angeführten Ergebnisse mögen einige kleine Tabellen dienen; am Ende der Arbeit sollen ausführlichere Notizen folgen.

Im wesentlichen wird Versuchsreihe I ein Bild geben, wie die Auffindung des günstigen O-Druckes geschah,

Versuchsreihe II die des H_2S-Druckes,

Versuchsreihe III die des CO_2-Druckes.

Versuchsreihe VIII soll zeigen, wie zu starker Unterdruck schädigend wirkte.

---

[1]) Siehe die Analyse von Bunsen weiter unten.

Versuchsreihe I. (Erprobung des geeigneten Sauerstoff-Druckes.)

Kultur angesetzt	Kultur nachgesehen	Partiärdruck des H_2S in mm	Partiärdruck des O in mm	Partiärdruck der CO_2 in mm	Unterdruck bis auf einige mm ausgegl. oder nicht	Zahl und Zustand der Kulturen
15.12.11	17. 12.	0,8	30	25	ausgegl durch H.	6 Kulturen, tot.
17. 12.	20. 12.	"	"	"	"	6 neue Kulturen, tot.
20. 12. bis 27. 12.		"	"	"	"	Kulturen starben stets ab, wurden erneut, aber nur der gleiche Erfolg.
27. 12.	29. 12.	0,8	20	25	"	Von 9 Kulturen 8 gut, eine tot, diese ersetzt.
fortgeführt bis 15. 1. 12		"	"	"	"	9 Kulturen, nicht schlecht, doch wenig ausgebreitet.
20. 1.	23. 1.	0,8	15	25	"	9 Kulturen, ohne Ausnahme gut.
23. 1.	26. 1.	"	"	"	"	dgl.
26. 1.	30. 1.	"	"	"	"	Dieselben Vermerke.
4. 2.	7. 2.	"	"	"	"	9 Kulturen, sehr gut, deutl. Vermehrung.
bis 6. 4. 12.		"	"	"	"	Stets sehr gute Kult.

Versuchsreihe II. (Erprobung des geeigneten Schwefelwasserstoff-Druckes.)

Kultur angesetzt	Kultur nachgesehen	Partiärdruck des H_2S in mm	Partiärdruck des O in mm	Partiärdruck der CO_2 in mm	Unterdruck bis auf einige mm ausgegl. oder nicht	Zahl und Zustand der Kulturen
15.12.11 alle 2 Tage erneutes Gasgemisch bis	18.12.11	1, 2.	10	12	mit H. ausgegl.	4 Kulturen, Aussehen leidlich.
	29. 12.	"	"	"	"	6 Kulturen, Fäden voll S, lebhaft bewegl.
29. 12.	1. 1. 12	"	"	"	"	Die gleichen Kulturen, leidlich.
fortgesetzt bis 1. 2. 12	3. 2.	"	"	"	nicht ausgegl.	Die 6 alten Kulturen sehen schlecht aus.
3. 2.	5. 2.	"	"	"	"	Die 6 Kulturen tot.
5. 2.	8. 2.	0,3	20	25	ausgegl.	9 neue Kult., alle tot.
8. 2.	12. 2.	"	"	"	"	9 neue Kult., auch tot.
12. 2.	15. 2.	0,8	15	25	"	9 gute Kulturen, sehen ausgezeichnet aus.
15. 2.	18. 2.	"	"	"	"	Die alt. Kult., sehr gut.
Versuche fortgeführt bis	10. 4.	"	"	"	"	Die alten Kulturen vom 12. 2. sehen sehr gut aus.

Versuchsreihe III. (Bestimmung der unteren H_2S-Grenze.)

Kultur angesetzt	Kultur nachgesehen	Partiärdruck des H_2S in mm	Partiärdruck des O in mm	Partiärdruck der CO_2 in mm	Unterdruck durch H bis auf einige mm ausgegl. oder nicht.	Zahl und Zustand der Kulturen
15.12.12	17. 12.	0,4	15	12	ausgegl.	4 Kulturen, tot.
17. 12.	18. 12.	„	„	„	„	4 neue Kulturen, tot.
18. 12.	19. 12.	„	„	„	„	4 neue Kulturen, wieder tot.
19. 12.	21. 12.	„	10	„	„	6 neue Kulturen, tot.
21. 12.	25. 12.	„	„	„	„	Wieder neue Kulturen, tot.
25. 12.	29. 12.	0,5	15	36	„	8 neue Kulturen, nicht gut.
29. 1.	1. 1. 12	„	„	„	„	Dieselben Kulturen, schlecht.
1. 1. 12	3. 1.	„	„	„	„	Alle 8 Kulturen tot.
3. 1.	5. 1.	0,9	20	36	„	8 neue Kulturen, diese leidlich.
5. 1.	9. 1.	„	„	„	„	Dgl.
fortgef.	bis 6. 2.	„	„	„	„	Die 8 Kulturen sind nicht schlecht.
6. 2.	10. 2.	0,8	15	25	„	Die Kulturen sehen besser aus.
fortgef.	bis 10. 4.	„	„	„	„	Alle 8 Kulturen ausgezeichnet.

Reihe VI und IX bestätigten lediglich die Resultate von I—III

Versuchsreihe VII. (Einfluß starken Unterdruckes.)

Kultur angesetzt	Kultur nachgesehen	Partiärdruck des H_2S in mm	Partiärdruck des O in mm	Partiärdruck der CO_2 in mm	Unterdruck durch H bis auf einige mm ausgegl. oder nicht	Zahl und Zustand der Kulturen
6. 1. 12	8. 1.	0,8	20	25	nicht ausgegl.	12 Kulturen, sehen leidlich aus.
8. 1.	11. 1.	„	„	„	„	Die 12 Kult. schlecht.
fortgef.	bis 29. 1.	„	„	„	„	Stets ungünstige Resultate.
29. 1.	1. 2.	„	15	„	„	12 neue Kulturen, nicht gut.
fortgef.	bis 7. 3.	„	„	„	„	Wieder alles schlecht.
7. 3.	11. 3.	„	„	„	ausgegl.	12 neue Kulturen, leidlich.
11. 3.	14. 3.	„	„	„	„	Alle Kulturen sind gut.
14. 3.	18. 3.	„	„	„	„	Dgl.
18. 3.	21. 3.	„	„	„	„	Dgl.
fortgef.	bis 6. 4.	„	„	„	„	Stets sehr gute Kultur.

Versuchsreihe IV.

Kultur		Partiär-druck des H_2S in mm	Partiär-druck des O in mm	Partiär-druck der CO_2 in mm	Unterdruck durch H bis auf einige mm ausgegl. oder nicht	Zahl und Zustand der Kulturen
angesetzt	nachgesehen					
27.12.11	29. 12.	0,8	6	Nur in Spur. vorh.	Ausgeglichen	4 Kulturen, alle tot.
29. 12.	1. 1. 12	0,9	15	Dgl.	=	6 Kulturen, alle tot.
1. 1.	3. 1.	=	=	=	=	6 neue Kulturen, tot.
fortges.	bis 26. 1.	=	=	=	=	Kulturen nach 3 Tagen stets tot.
26. 1.	28. 1.	0,8	=	völlig ohne CO_2	=	3 Kulturen aus Glocke I waren sehr gut, 2 sind tot.
28. 1.	29. 1.	=	=	=	=	Die dritte Kultur aus Glocke I auch tot.
29. 1.	31. 1.	=	=	=	=	Neue Kulturen aus Reihe I und aus Rohmaterial hergestellte. Die aus Reihe I alle tot. Die andern noch lebend u. um Verunreinig. versammelt.
fortges.	bis 19. 2.	=	=	=	=	Die Resultate sind stets die gleichen.

Versuchsreihe V.

Kultur		Partiär-druck des H_2S in mm	Partiär-druck des O in mm	Partiär-druck der CO_2 in mm	Unterdruck durch H bis auf einige mm ausgegl. oder nicht	Zahl und Zustand der Kulturen
angesetzt	nachgesehen					
28.1.12	31. 1.	1,2	15	keine CO_2	ausgegl.	6 Kulturen, einige ohne fremde Organismen tot, verunreinigte lebend.
31. 1.	4. 2.	=	=	=	=	Die drei toten Kulturen ersetzt. Fäden in allen 6 Kulturen tot.
4. 2.	6. 2.	=	=	=	=	6 neue Kulturen mit Begg. u. Thiothr. In 4 Kult. alles tot. 2 mit Verunreinig. lebend.
6. 2.	9. 2.	0,8	=	-	-	Die 4 toten Kult. durch 8 reine ersetzt, diese wieder tot. Die 2 alten lebend.
9. 2.	13. 2.	=	-	=	=	Wieder neue Kulturen, jetzt auch die 2 alten tot.
13. 2.	15. 2.	=	=	25	=	9 neue reine Kulturen, diese gut.
15. 2.	18. 2.	=	=	=	=	Dgl.
18. 2.	20. 2.	=	=	=	=	Kultur. sehr gut, starke Vermehrung.
fortgef.	bis 6. 4.	=	=	=	=	Stets gleich gut lautende Notizen.

Für die eigenartigen Ergebnisse bei Reihe VII kann ich, wie bereits die Überschrift andeutet, keine andere Erklärung finden, als daß die farblosen Schwefelbakterien bei starkem Unterdruck zugrunde gehen.

Tabellen für die Kulturversuche in kohlensäurefreier Atmosphäre.

Für die hier in Betracht kommenden Untersuchungen wurden die mit No. IV, V und VIII bezeichneten Kulturreihen verwendet. Ich führe hier nur Tabellen für IV und V auf, da VIII nichts wesentlich neues bringen würde. Im übrigen verweise ich auf die im Anhang wiedergegebenen Protokolle.

III. Gewinnung der Reinkulturen.

Wie schon am Anfang des vorigen Kapitels angedeutet ist, bemühte ich mich vergeblich, mit den verschiedensten Verfahren eine Isolierung der Schwefelbakterien in Reinkulturen zu erzielen. Lange Zeit wurden diese Versuche als aussichtslos aufgegeben, bis sich die bei den bisherigen Untersuchungen angewendete Kulturmethode auch zur Erreichung dieses Zieles brauchbar erwies. Spezieskulturen zu erreichen, die in der Isolierung bestimmter Dickenformen von Beggiatoa und Thiothrix bestanden hätten, lag nicht in meiner Absicht, da es sich hier meist um physiologische Fragen handelte, die bei allen untersuchten Spezies die gleichen waren.

1. Reinkultur von Thiothrix.

Zunächst werde ich mich mit der Reinkultur von Thiothrix zu beschäftigen haben, da diese am ehesten gelang und auch weit einfacher war als die von Beggiatoa. Lange Zeit hatte ich nur die letzte der beiden genanten Schwefelbakterienformen in Kultur, bis dann plötzlich in einigen Schalen die für Thiothrix bezeichnenden Rasenbildungen auftraten, die sich bald über die ganze Schale ausbreiteten und dabei die Beggiatoen allmählich verdrängten. Nachdem genügend Material vorhanden war, so daß keine Gefahr bestand, alles zu verlieren, ging ich dazu über, die Kolonien von den sie verunreinigenden Lebewesen zu säubern. Zu diesem Zwecke brachte ich die Petrischale mit den Thiothrixkolonien ohne besondere Vorsichtsmaßregeln unter den Strahl der Wasserleitung und ließ diesen eine halbe Stunde lang sehr stark laufen. So waren mit ziemlicher Sicherheit alle in der Schale befindlichen Verunreinigungen weggespült. Darauf wurde die Kultur noch 2 bis 3 Mal mit sterilem Langenbrücker Wasser ausgespült und dann verschlossen. Der Deckel der Schale lag während der ganzen Zeit

auf einem mit Alkohol getränkten Stück Fließpapier, so daß durch ihn keine Infektion zu befürchten war. Unter dem Mikroskop zeigten die so behandelten Kulturen nur noch die Schleimpolster und ganz geringe Reste der ursprünglich sehr langen Thiothrixfäden. Diese recht grobe Behandlung beeinträchtigte nicht im geringsten die Lebensfähigkeit der Thiothrixkulturen. Nach ungefähr einer Woche hatten die Fäden wieder eine beträchtliche Länge erreicht und begannen in der zweiten Woche die Abschnürung von Endgliedern.

Mag dies Verfahren im Vergleich zu anderen bakteriologischen Reinzüchtungsverfahren recht wenig sicher und roh erscheinen, denn es war schwer, zu vermeiden, daß bei der mikroskopischen Kontrolle nicht doch einige fremde Sporen die Schale hätten infizieren können, so führte es doch zum Ziele. Sicher hat dabei die ganz ausschließlich den Bedürfnissen der Schwefelbakterien angepaßte Atmosphäre in den Kulturglocken die wesentliche Arbeit geleistet, da es wohl kaum, außer vielleicht einigen anderen Schwefelbakterien, Infusorien und Oscillarien, einen Organismus gibt, welcher auf die Dauer im Stande ist, ein solches Gasgemisch zu ertragen, oder gar darin lebens- und vermehrungsfähig zu bleiben. Es ist leicht möglich, obgleich ich es nie beobachtet habe, daß hineingekommene Bakterien- und Pilzsporen in dem ja nicht ungünstigen Langenbrücker Wasser eine kurze Zeit gelebt und einige Entwicklungsstadien durchlaufen haben, dann aber absterben mußten. Ich kann hier nur die Tatsache anführen, daß die Kulturen, nachdem sie mehrere Male in der oben beschriebenen Weise behandelt worden waren, absolute Reinheit zeigten. Denn setzte ich dem Langenbrücker Wasser 0,1—0,2% Pepton zu, so konnten die Schalen wochenlang in Kultur bleiben, ohne daß die geringste Spur einer Bakterienvermehrung bemerkbar gewesen wäre. Es wurden Proben mit Pepton und Fleischsaft nicht etwa ausschließlich unter den Glocken, sondern auch in reiner Luft wiederholt angestellt. Selbst Proben in Röhrchen auf Peptonagar, Pepton-Fleischsaftagar und Heydenagar zeigten nichts als die toten Thiothrixfäden, blieben aber sonst völlig rein, auch wenn sie bei 30° C. standen, so daß damit wohl der Beweis absoluter Reinheit erbracht ist.

2. Die Reinkultur von Beggiatoa.

Weniger leicht als die Reinkultur von Thiothrix gelang die von Beggiatoa. Zunächst wurden die zu benutzenden Petrischalen in heißer Luft sterlisiert und dann mit sterilem Langenbrücker Wasser gefüllt. Das Beggiatoamaterial wurde, bevor es in die Schalen kam, mit sterilem Langenbrücker Wasser tüchtig ausgewaschen, damit schon von vornherein die Verunreinigungen möglichst beseitigt waren. Dann brachte ich die Schalen in die günstigste Atmosphäre unter die Glocken

und erneute jeden zweiten Tag das Gasgemisch. Alle acht Tage wurde die Nährflüssigkeit gewechselt. In kurzer Zeit ließ sich dann eine deutliche Vermehrung der Beggiatoen feststellen. Die Fäden bewegten sich lebhaft und waren über die ganze Schale verbreitet, teilweise entstanden so dichte Schleier von Beggiatoa, daß man sie mit bloßem Auge erkennen konnte. In solchen Kulturen zeigte sich nach einiger Zeit ein feines Netz von Beggiatoafäden über die Flüssigkeitsoberfläche ausgespannt. Die Fäden benutzten die regelmäßig auf der Nährlösung schwimmenden Kristalle als Stützpunkte. Die schwimmenden Fäden zeigten selten Verunreinigungen, meist hielten sich die besonders lästigen Infusorien in der Tiefe der Flüssigkeit. Von diesem Material impfte ich dann in eine sterile Schale mit sterilem Langenbrücker Wasser über. Die dann noch mit übertragenen Infusorien fanden in der Flüssigkeit nur spärliche Nährstoffe. Da die Beggiatoen sehr gut gediehen, fand sich auch hier keine Nahrung für die Infusorien. Daß sie sich von absterbenden Beggiatoafäden ernähren, habe ich oft beobachten können, die lebenden Fäden waren aber zu widerstandsfähig, um von dem Strudel an der Cytostomöffnung weggerissen zu werden. So gelang es nach vier- bis fünfmaligem Weiterimpfen, Kulturen zu erhalten, die ausschließlich Beggiatoen enthielten. Die Proben, welche mit Pepton, Fleischsaft und den verschiedenen Agarmischungen angestellt wurden, verliefen genau in der gleichen Weise, wie ich es oben für Thiothrix beschrieben habe.

Somit war es gelungen, die beiden hauptsächlichsten Vertreter der farblosen Schwefelbakterien des Süßwassers zu isolieren. Danach muß es als erwiesen gelten, daß diese Schwefelbakterien sich autotroph ernähren können, wenn ihnen Schwefelwasserstoff, Sauerstoff, Kohlendioxyd und eine bestimmte mineralische Nährlösung zur Verfügung steht, wie es in den Schwefelquellen tatsächlich der Fall ist. Etwas anders liegen die Verhältnisse in Flüssen und Sümpfen, wo der Schwefelwasserstoff erst durch die Tätigkeit anderer Lebewesen aus den faulenden organischen Stoffen, oder aus sauerstoffhaltigen, anorganischen Schwefelverbindungen durch Reduktion entsteht. Diese Schwefelwasserstoffversorgung ist aber auch das einzige Abhängigkeitsverhältnis der Schwefelbakterien von anderen Organismen. An den beiden letztgenannten natürlichen Fundorten für Schwefelbakterien könnten von diesen schließlich auch organische Substanzen verarbeitet werden. Ob dies der Fall ist, wird im nächsten Abschnitt näher zu erläutern sein.

IV. Bestimmung der anorganischen und organischen Stoffe, welche zur Ernährung der Schwefelbakterien geeignet sind.

In dem bisher dargestellten Teil meiner Arbeit habe ich als Kulturflüssigkeit fast ausschließlich das Wasser der Langenbrücker Schwefelquelle (Waldquelle) verwendet. Die bei Winogradsky angegebene, von Bunsen ausgeführte Analyse dieses Wassers legte ich nun auch meinen weiteren Untersuchungen zugrunde. Ich werde daher der Einfachheit wegen die in Winogradskys Arbeit gemachten Angaben hier wiederholen: Das Wasser der Waldquelle hat in 1000 Teilen Flüssigkeit:

Zweifach kohlensauren Kalk	3,4055
Zweifach kohlensaure Magnesia	2,6503
Wasserfreien schwefelsauren Kalk	3,1478
Schwefelsaure Magnesia	5,0528
Schwefelsaures Natron	2,1245
„ Kali	0,2072
Phosphorsauren Kalk (dreibasisch in CO_2 gelöst)	0,2157
Chlorkalium	0,1358
Schwefeleisen (in Schwefelcalcium gelöst)	0,0459
Tonerde	0,0414
Schwefelcalcium	0,0569
Kieselerde	0,1753
freie Kohlensäure	2,3561
freien Schwefelwasserstoff	0,0994

Spuren von organischen Stoffen und von Fluorcalcium.

Zunächst versuchte ich diese sehr zusammengesetzte Flüssigkeit durch einfachere zu ersetzen und verwendete zuerst Knopsche, Sachssche und allerdings nur kurze Zeit auch v. d. Cronesche Nährlösung; in alle leitete ich, ehe Schwefelbakterien hineingeimpft wurden, etwas CO_2. Leider waren die Ergebnisse nicht günstig, in kurzer Zeit waren alle Beggiatoa- bezw. Thiothrixfäden tot. Auch alte Kulturen, in denen das natürliche Langenbrücker Wasser durch eine dieser Lösungen ersetzt wurde, gingen bald zugrunde. Vielleicht waren diese Flüssigkeiten wegen ihrer schwach sauren Reaktion ungeeignet.

Ich stellte darauf mehrere Lösungen zusammen, die vielleicht den Bedürfnissen der Schwefelbakterien besser entsprechen konnten. So z. B.

NaH_2PO_4 Natriumorthophosphat / Mononatriumphosphat } 0,1 %

$MgSO_4$	Magnesiumsulfat	0,05 %
KCl	Chlorkalium	0,05 %
$KHCO_3$	Kaliumbikarbonat	0,1 %

und dazu entweder KNO_3 Kaliumnitrat oder $(NH_4)_2SO_4$ Ammoniumsulfat.

Weiter wurde zu hiesigem Leitungswasser, welches ziemlich reich an Calciumsalzen ist, noch Ammoniumphosphat $(NH_4)_2HPO_4$, Kaliumnitrat (KNO_3) oder Ammoniumsulfat $(NH_4)_2SO_4$ gesetzt. Schließlich verwendete ich auch noch folgende Lösung:

Magnesiumsulfat	$(MgSO_4)$	0,5 %
Kaliumbikarbonat	$(KHCO_3)$	0,5 %
Tricalciumphosphat	$(Ca_3(PO_4)_2)$	0,02 %
Calciumnitrat	$(Ca(NO_3)_2)$	0,01 %

und dann die gleiche Lösung, nur Ammoniumsulfat $(NH_4)_2SO_4$ statt Calciumnitrat $(Co(NO_3)_2)$

Spuren von Schwefelkalium (K_2S) und Schwefeleisen (FeS).

Auch diese Lösungen führten bei Beggiatoa zu keinem positiven Ergebnis. — Ob die Beggiatoen nicht im Stande sind, starke Änderungen des osmotischen Druckes der sie umgebenden Flüssigkeit zu ertragen, oder ob die Reaktion der Lösung eine große Rolle spielt, habe ich nicht entscheiden können. Durch weiter unten zu beschreibende Versuche mit organischen Stoffen wird sogar ziemlich wahrscheinlich gemacht, daß der osmotische Druck nicht allzu erheblich wirkt. — Die Beggiatoafäden zerfielen auch hier sehr bald in kleine Stückchen, die völlig unbeweglich waren. Nur schneller Zusatz natürlichen Langenbrücker Wassers ermöglichte es, die Kulturen zu retten und zu neuem Wachstum anzuregen.

Da diese Versuche, mit einer einfachen Nährflüssigkeit zu arbeiten, fast ausnahmslos scheiterten, sah ich mich veranlaßt, eine dem Langenbrücker Wasser möglichst entsprechende Nährlösung herzustellen, die ich als „künstliches Langenbrücker Wasser“ bezeichnen will. Ich lehnte mich dabei zunächst ziemlich eng an die Analyse von Bunsen an. Später wurden, um den Wert der einzelnen Salze zu studieren, einige Veränderungen vorgenommen. Meist befanden sich in der Flüssigkeit:

Calciumbikarbonat $CaH_2(CO_3)_2$	0,34 %
Magnesiumbikarbonat $MgH_2(CO_3)_2$	0,27 %
Calciumsulfat $(CaSO_4)$	0,31 %
Magnesiumsulfat $(MgSO_4)$	0,51 %
Natriumsulfat (Na_2SO_4)	0,21 %
Kaliumsulfat (K_2SO_4)	0,02 %
Calciumphosphat $(Ca_3(PO_4)_2)$	0,02 %
Kaliumchlorid (KCl)	0,01 %
Kaliumsulfid (K_2S)	0,01 %
Eisensulfid (FeS)	0,01 %
Calciumsulfid (CaS)	0,01 %

Dazu wurden dann noch verschiedene stickstoffhaltige Verbindungen gebracht. Da sich die Frage nach der Wirkung der einzelnen Salze nicht ohne Anwesenheit von bestimmten stickstoffhaltigen Substanzen lösen läßt, fand zunächst die Bestimmung der

Stickstoffquellen für die Schwefelbakterien

statt. Nachdem ich einige Kulturen mit dem künstlichen Langenbrücker Wasser ohne Zusatz einer Stickstoffverbindung angesetzt und damit keine Erfolge gehabt hatte, wandte ich mich der Frage zu, ob Nitrate, Ammoniumsalze oder organische Stickstoffverbindungen verarbeitet werden können. So wurden dem künstlichen Langenbrücker Wasser 0,05% Calciumnitrat zugesetzt. Damit ließ sich wohl die Lebensdauer bei Beggiatoa und Thiothrix etwas verlängern, doch gelang es nie, eine merkliche Vermehrung festzustellen. Die Bewegungen der Beggiatoafäden waren sehr langsam, und bei Thiothrix fand keine Abschnürung von Fortpflanzungszellen statt.

So wandte ich mich zur zweiten Gruppe stickstoffhaltiger Substanzen, den Ammoniumverbindungen, um zu sehen, wie sie auf die Ernährung der farblosen Schwefelbakterien einwirken. Zunächst zeigten auch hierbei die Kulturen kein besonders gutes Aussehen, kurz nach dem Ersetzen des natürlichen Wassers durch künstliches mit Ammoniumsulfat gingen die meisten Beggiatoafäden zugrunde, so daß diese Stickstoffquelle nicht die richtige zu sein schien. Die Kulturen wurden jedoch noch einige Zeit in der günstigsten Atmosphäre gehalten und mit frischem künstlichen Wasser mit $(NH_4)_2SO_4$ versehen. Nach ungefähr einer Woche zeigten diese Kulturen ein ganz anderes Verhalten. Die wenigen am Leben gebliebenen Fäden, welche sich inzwischen den neuen Verhältnissen angepaßt haben mochten, begannen sich lebhaft zu bewegen und stark zu vermehren. Die Vermehrung ging recht schnell vor sich, so daß die Kulturen mit $(NH_4)_2SO_4$ bald die mit natürlichem Schwefelwasser ohne Ammoniumsalz an Schönheit übertrafen.

An dieser Stelle soll auch das Verhalten einiger Thiothrix-Kulturen bei Zusatz der oben angeführten vereinfachten Nährlösungen — es handelte sich um die beiden auf S. 353 beschriebenen — eingehender besprochen werden. Wie betont, schlugen alle Versuche mit diesen Lösungen bei Beggiatoen fehl, bei Thiothrix dagegen gelang die Kultur in der Lösung mit $(NH_4)_2SO_4$. Während in der Flüssigkeit mit $(CaNO_3)_2$ alle Fäden allmählich abstarben, gediehen sie mit Ammoniumsulfat recht gut, die Fäden wuchsen lang aus und zeigten an den Enden oft drei und mehr abgeschnürte Fortpflanzungszellen. Dieses gegen Beggiatoa so abweichende Verhalten der Thiothrix mag wohl seinen Grund in der größeren Widerstandsfähigkeit und Bedürfnislosigkeit der letzteren haben.

Jedenfalls ist durch diese Untersuchungen festgestellt, daß Ammoniumsalze als Stickstoffquelle anorganischen Ursprungs[1]) bei dem Wachstum der farblosen Schwefelbakterien allein in Betracht kommen.

Nachdem so in dem künstlichen Langenbrücker Wasser mit einem Zusatz von 0,05% $(NH_4)_2SO_4$ eine vorzügliche Nährlösung gefunden war, wandte ich mich zur Untersuchung der Wirkung einiger anderer in der Lösung vorhandener Salze zu. Dabei stellte sich heraus, daß die Anwesenheit von Carbonaten der Alkalierdmetalle unbedingt notwendig ist. Es war ziemlich gleichgültig, ob Magnesium- oder Calciumsalze Verwendung fanden. Ungeeignet zum Ersatz der Salze der alkalischen Erden waren die Salze der Alkalien. Als ziemlich förderlich erwies sich die Anwesenheit eines Chlorids in der Lösung. Selbstverständlich durften phosphorhaltige Stoffe nie fehlen.

Um nun ganz sicher behaupten zu können, die farblosen Schwefelbakterien bedürfen zu ihrer Ernährung keiner organischen Stoffe, verfuhr ich folgendermaßen: Die Petrischalen und sonstigen Glasgefäße, welche bei diesem Teil der Arbeit Verwendung fanden, wurden mit einer Lösung von Chromsäure in Schwefelsäure ausgewaschen, mit destilliertem Wasser ausgespült und sterilisiert. Dann wurde eine aufs sauberste hergestellte, künstliche Nährlösung mit $(NH_4)_2SO_4$ in die Schalen gebracht und aus Reinkulturen Thiothrix, bezw. Beggiatoa hineingeimpft. So hatte ich die Gewähr, in den Kulturen jede Spur organischer Nährstoffe ausgeschaltet zu haben. Die wenigen übergeimpften Fäden vermehrten sich bald sehr stark, auffallend war bei Beggiatoa die außerordentliche Länge der Fäden.

Zur Bestätigung der in diesem Abschnitt dargestellten Untersuchungen möchte ich nun noch einige Angaben aus meinen Protokollen wiedergeben. Ehe ich dies jedoch tue, weise ich nochmals darauf hin, daß man kurze Zeit nach dem Überführen aus natürlichen in künstliches Langenbrücker Wasser nie sehr schöne Kulturen erwarten darf.

Versuche mit den beiden künstlichen Nährlösungen (s. S. 353).

Stickstoffquelle $Ca(NO_3)_2$.

12. 2. 12. 8 Schalen mit Beggiatoa, teils mit Thiothrix auf mehrere Kulturglocken verteilt.

15. 2. 12. Alle Beggiatoenkulturen schlecht. Thiothrixkulturen besser. Die toten Beggiatoakulturen durch neue ersetzt.

18. 2. 12. Alle 8 Kulturen, auch die von Thiothrix, tot. Noch einmal 8 neue Kulturen.

21. 2. 12. Beggiatoa tot, Thiothrix schlecht in allen Kulturen.

[1]) Einige weitere Bestätigungen werden die Versuche mit organischen Stoffen bringen.

Von nun an: Stickstoffquelle $(NH_4)_2SO_4$.

21. 2. 4 Kulturen mit Beggiatoa, 4 mit Thiothrix.
23. 2. Die Beggiatoenkulturen wieder tot.
Thiothrixkulturen leidlich. Neue Beggiatoenkulturen.
25. 2. Thiothrixkulturen gut. Beggiatoa tot.
fortgeführt bis 15. 3., stets dieselben Erfahrungen.

Versuche mit künstlichem Langenbrücker Wasser.

Stickstoffquelle: $Ca(NO_3)_2$.

(Die Kulturschalen waren stets auf mehrere Glocken verteilt.)

2. 3. 12. 8 sehr gute Beggiatoa- und Thiothrixkulturen verwendet.
5. 3. Alle Kulturen sehen leidlich aus.
7. 3. Desgl.
9. 3. Beggiatoakulturen schlecht. Thiothrix leidlich.
12. 3. Alle 8 Kulturen tot.
Nochmals 8 neue Kulturen, wie am 2. 3.
15. 3. Die Kulturen sehen nicht schlecht aus.
18. 3. Beggiatoakulturen zeigen Zerfall der Fäden.
Thiothrixkulturen leidlich.
20. 3. Alle 8 Kulturen zeigen nur tote Fäden.
NB. Noch mehrere Male mit gleichem Erfolg wiederholt.

Stickstoffquelle: $(NH_4)_2SO_4$.

2. 3. 12. 8 sehr gute Beggiatoen- und Thiothrixkulturen verwendet.
5. 3. Viele Beggiatoafäden tot, die anderen kriechen nur langsam.
Thiothrixkulturen leidlich.
7. 3. Desgl. Noch einige neue Beggiatoakulturen.
9. 3. Thiothrixkulturen leidlich. Die Beggiatoafäden bewegen sich lebhafter. Die am 7. hinzugekommenen sehen nicht gut aus.
12. 3. Die 8 alten Kulturen sehen sehr gut aus. Die vom 7. nicht besonders.
15. 3. Alle 12 Kulturen sind gut.
18. 3. Überall lebhafte Vermehrung, die Kulturen sehr gut aus, besser sogar als die Parallelkulturen mit natürlichem Langenbrücker Wasser.
20. 3. Desgl.
Notizen lauten stets sehr gut bis zur Beendigung der Versuche.

Nach diesen Versuchen kann man mit Bestimmtheit sagen, daß Ammonsalz in erster Linie als Stickstoffquelle für die farblosen Schwefelbakterien in Betracht kommen. Ich möchte sogar behaupten, daß das lebhaftere Wachstum in dem $(NH_4)_2SO_4$ haltigen, künstlichen Langenbrücker Wasser, gegenüber dem der Kulturen in natürlichem Schwefelwasser ausschließlich auf den größeren Vorrat leicht assimilierbaren Stickstoffes zu schieben ist. Diese Ansicht wird durch

die im folgenden Abschnitt zu besprechenden Untersuchungen mit organischen Stoffen noch weitere Bestätigung finden.

Mit den vorliegenden Untersuchungen ist jedenfalls einwandfrei festgestellt, daß wir in den farblosen Schwefelbakterien rein autotrophe Lebewesen vor uns haben, die zum Aufbau ihrer Zellkörper weder der Hilfe anderer Organismen noch organischer Stoffe bedürfen. „Damit erklärt sich auch", wie Omelianski[1]) im Anschluß an eine Vermutung, daß die Schwefelbakterien autotrophe Lebewesen sind, sagt, „einerseits ihr (im Verhältnis zur Größe der Schwefelabspaltung) ungemein langsames Wachstum, andererseits ihre Unfähigkeit, auf den in der Bakteriologie gewöhnlich gebräuchlichen Nährboden zu gedeihen."

Nach obiger Feststellung ist es von Interesse zu sehen, wie organische Stoffe auf die Schwefelbakterien einwirken.

Die Wirkung organischer Stoffe auf die farblosen Schwefelbakterien.

Nachdem im vorigen Abschnitt bewiesen worden ist, daß eine Ernährung der Schwefelbakterien mit organischen Stoffen nicht notwendig ist, sollen hier verschiedene Stoffe organischen Ursprungs in ihrer Wirkung auf die farblosen Schwefelbakterien besprochen worden. Schon Winogradsky hat versucht, die Beggiatoen in künstlichen, leicht zersetzliche Stoffe enthaltenden Nährlösungen zu kultivieren, aber ohne jeden Erfolg. Ich will, ehe ich meine Beobachtungen wiedergebe, die wichtigsten Punkte der Winogradskyschen Darlegungen, der besseren Orientierung halber, wiederholen. Er schreibt:

„Ich habe sehr verschiedene Stoffe angewendet und in allen möglichen Konzentrationen. Mit sehr verdünnten Lösungen erhielt ich etwas bessere Resultate als mit etwas konzentrierteren. Kultiviert man Beggiatoa in einer Lösung von ½% Pepton und 1% Zucker, so wimmelt schon nach 15—20 Stunden die Kultur von Bakterien; . . . . . Ich habe folgende Reihe von ungefähr gleich verdünnten Nährlösungen gebraucht. 1. Pepton. 2. Pepton und Zucker. 3. Zucker und Ammonnitrat. 4. Zucker und Ammontartrat. 5. Asparagin allein. 6. Asparagin und Ammontartrat, dann noch einige Dekokte und Nährgelatine. Diese Substanzen löste ich in Brunnenwasser oder Langenbrücker Wasser. Ich beschränke mich auf einige kurze Bemerkungen. In zucker- und peptonhaltigen Lösungen traten, trotz wiederholtem Auswaschen der Kulturen, Bakterien bald massenhaft auf, was (d. h. wahrscheinlich die gebildeten Zersetzungsprodukte) nachteilige Folgen für die Beggiatoen hatte. Die Kulturen gingen bald zugrunde . . . . . — Das einzige Ergebnis aller dieser Versuche war, daß Beggiatoen in den genannten Lösungen viel schlechter gedeihen, als im Wasser der Schwefelquellen. Der Zusatz von diesen leicht zersetzbaren Stoffen ist also für das Gedeihen der Beggiatoen zum mindesten unnötig. Im Gegenteil scheint die Anwesenheit dieser Stoffe ihr Wachstum zu hemmen. Das hat freilich seinen Grund in erster Linie in dem Umstande, daß diese Stoffe die Vermehrung der Bakterien begünstigen, welche für die

---

[1]) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie.

Beggiatoen schädliche Zersetzungsprodukte bilden. Ich habe aber auch manchmal eine ganz deutliche Hemmung des Wachstums in Lösungen, wo Bakterien nur langsam sich vermehrten, beobachtet . . . . . Diese Beobachtungen scheinen auf eine direkte nachteilige Wirkung dieser oben genannten organischen Stoffe hinzuweisen; worin dieselbe besteht, ist unklar, vielleicht nur in der Erhöhung der Konzentration, der osmotischen Wirkung der Flüssigkeit. Schließlich läßt sich diese direkte nachteilige Wirkung doch nicht ganz sicher beweisen infolge des unvermeidlichen, aber wechselnden Eingreifens von verschiedenen Bakterien. — Als sicher kann man nur folgenden Satz betrachten, daß die Beggiatoen auch in der Natur die leicht gährenden Substanzen nicht benutzen können, weil sie in einer solche Substanzen enthaltenden Lösung die Konkurrenz mit anderen Bakterien nicht aushalten können."

Diese Betrachtungen Winogradskys lieferten den Ausgangspunkt für meine Untersuchungen. Nach den Erörterungen Winogradskys ist es vollkommen klar, daß zu einer befriedigenden Lösung dieser Fragen die Ausschaltung jedes die Übersicht störenden fremden Organismus Notwendigkeit war. So kamen mir für diesen Teil meiner Arbeit besonders die Reinkulturen sehr zustatten und ermöglichten auch hier die Lösung der in Betracht kommenden Fragen. Es fanden hauptsächlich die von Winogradsky angegebenen sechs Lösungen Verwendung. 1. Pepton, 2. Pepton und Zucker, 3. Zucker und Ammonnitrat, 4. Zucker und Ammontartrat, 5. Asparagin allein, 6. Asparagin und Ammontartrat. Vondiesen Stoffen wurden konzentrierte Lösungen von bestimmtem Prozentgehalt hergestellt und dann eine abgemessene Menge davon den sterilen Nährflüssigkeiten zugesetzt. Ich habe dabei Konzentrationen gegeben, die mindestens 0,1%, höchstens 0,5% organischer Substanz enthielten. Höhere Konzentrationen verwendete ich nur einige Male, es traten jedesmal Erkrankungserscheinungen auf. Was deren Ursache betrifft, so möchte ich mich hier der Ansicht Winogradskys anschließen, welcher den erhöhten osmotischen Druck als Ursache der Erkrankungserscheinungen betrachtet. Wie ich jedoch schon weiter oben andeutete, können hier auch die Reaktion der Nährlösung und andere bisher unbekannte Einflüsse mitwirken.

Die Kulturversuche mit allen sechs angegebenen Lösungen verliefen recht befriedigend insofern, als sich in keiner Petrischale vom 14. März bis Ende April auch nur eine Spur fremder Organismen zeigte, worin eine Bestätigung des Gelingens der Reinkultur liegt.

Andererseits bestätigte sich Winogradskys Vermutung von der Schädlichkeit organischer Stoffe nicht im geringsten. Die Schwefelbakterien zeigten den ihnen gebotenen organischen Substanzen gegenüber ein völlig gleichgültiges Verhalten in bezug auf Wachstum und Vermehrung. Eine Steigerung der Lebenstätigkeit bewirkten die Lösungen, welche Ammonverbindungen enthielten. (Als Nährflüssigkeit diente natürliches Langenbrücker Wasser, welches ja bekanntlich sehr

arm an Stickstoff ist.) Dies fällt aber bei der Bevorzugung der Ammonsalze als Stickstoffnahrung für Beggiatoa und Thiothrix nicht weiter auf. Die schädigende Wirkung der organischen Stoffe blieb vollkommen aus. Nirgends traten Zerfallerscheinungen auf, weder, wie bei Winogradsky nach 24 Stunden, noch nach mehrwöchentlicher Kulturdauer. Die Vermehrung und alle anderen Lebensvorgänge liefen genau so schnell ab, wie in den Parallelkulturen mit rein anorganischem Nährsubstrat, bezw. natürlichem Langenbrücker Wasser. Diese Lösung der Frage entspricht wohl auch am besten den Bedingungen, unter welchen die Schwefelbakterien in der Natur meist vorkommen. Hiermit sind weniger die Schwefelquellen gemeint, deren Wasser wohl immer nur Spuren organischer Substanzen enthält, sondern Flüsse und Sümpfe, die da, wo Schwefelwasserstoff entwickelt wird, doch stets organische Substanzen enthalten.

Auf Grund der Winogradskyschen und meiner Beobachtungen habe ich mich nicht weiter bemüht zu untersuchen, ob organische Stoffe einen Ersatz für den Schwefelwasserstoff bilden können. Denn läßt man eine Reinkultur mit künstlichem Wasser, $(NH_4)_2SO_4$ und organischen Stoffen einige Zeit in frischer Luft stehen, so verschwindet allmählich aller Schwefel aus den Zellen und nach kurzer Zeit zerfallen die Fäden. Damit ist doch wohl bewiesen, daß Schwefelwasserstoff nicht durch organische Substanzen ersetzt werden kann. Wenn Winogradsky in peptonhaltigen Flüssigkeiten eine Schwefelausscheidung in den Beggiatoafäden fand, so war der dazu notwendige Schwefelwasserstoff eben durch die Tätigkeit fremder Bakterien frei geworden und konnte so von den Beggiatoen oxydiert werden. Die farblosen Schwefelbakterien sind nicht imstande, sich aus anderen Stoffen selbst Schwefelwasserstoff zu erzeugen, oder unter Aufhebung der Schwefelwasserstoffoxydation organische Stoffe zu verarbeiten, sich also heterotroph zu ernähren, wie dies die Wasserstoffbakterien vermögen.

Nachdem so die Notwendigkeit des Schwefelwasserstoffes festgestellt ist, bleibt noch die Frage, ob organische Stoffe für die Kohlensäure und die Ammoniumsalze einen Ersatz bilden können. Für die Experimente über die Ersetzbarkeit des Kohlendioxyds wandte ich das auf S. 344 beschriebene Verfahren an, wobei allerdings nur die Glocken bis auf eine zehntel Atmosphäre ausgepumpt wurden. Der dabei zurückbleibende Rest Kohlensäure genügt, wie gezeigt, nicht zur Ernährung. Der Schwefelwasserstoff wurde mit Wasserstoff gemischt in die Glocken gebracht. Da Reinkulturen in künstlichem Langenbrücker Wasser bei diesen Versuchen verwendet wurden, war eine CO_2-Abgabe von Seiten der Flüssigkeit, wie es bei natürlichem Wasser geschieht, ausgeschlossen. Trotzdem Pepton, Zucker und andere kohlenstoffreiche organische Substanzen zur Nährflüssigkeit gesetzt worden waren, zeigten die Kulturen bereits nach zwei Tagen viele, nach drei Tagen ausnahmslos tote

Fäden. Es gelang auch nicht durch Überführen der Kulturen in normale, d. h. kohlensäurehaltige Atmosphäre die Schwefelbakterien Beggiatoa und Thiothrix zu neuem Wachstum anzuregen.

Nun bleibt nur noch die Frage, ob an Stelle der Ammoniumsalze organische Stickstoffverbindungen treten können. (Organische Ammonsalze wirkten, wie ja oben erwähnt wurde, auch etwas fördernd.) Eingehender habe ich mich mit der Wirkung von Asparagin, Leucin und Pepton beschäftigt, die ja im allgemeinen recht gute Stickstoffquellen für Bakterien sind. Während nun die Kontrollversuche mit künstlichem Wasser und Ammoniumsulfat sehr schöne Beggiatoa- und Thiothrixkulturen lieferten, traten in den Kulturen, in welchen als Stickstoffquelle Pepton, Asparagin oder Leucin gegeben war, nach 6—10 Tagen Erkrankungserscheinungen auf, die bei unveränderten Kulturbedingungen bei Beggiatoa bald, bei Thiothrix nach ungefähr 20 Tagen zu völligem Absterben führten. Vorher war es leicht, durch Zusatz normaler, d. i. $(NH_4)_2SO_4$-haltiger Nährflüssigkeit die Kulturen zu erhalten und auf ihr ursprünglich gutes Aussehen und Wachstum zurückzuführen. Ob nicht andere Stickstoffquellen möglich sind, wurde nicht untersucht. Die sonst besten jedenfalls gingen nicht.

Hiermit kann man wohl die wesentlichen Probleme aus der Ernährungsphysiologie der farblosen Schwefelbakterien für gelöst ansehen. Es bleiben nur noch einige mit der Ernährungsphysiologie weniger eng verknüpfte Fragen und einige ökologische und morphologische Beobachtungen über die Schwefelbakterien zu besprechen.

Einfluß der Temperatur auf das Wachstum der farblosen Schwefelbakterien.

In der Literatur habe ich nur wenige Angaben über den Einfluß der Temperatur auf die Lebenserscheinungen der Schwefelbakterien gefunden. Aus der ersten Hälfte vorigen Jahrhunderts finden sich Angaben[1]), daß Beggiatoen in den Thermen von Euganea bei nahezu 70° vorkommen, neuere Untersuchungen[2]) scheinen zu beweisen, daß sie keine so hohen Temperaturen ertragen können.

Schon bei Besprechung der natürlichen Fundorte für Schwefelbakterien (s. S. 338) hatte ich Gelegenheit zu erwähnen, daß ich Beggiatoa und Thiothrix selbst bei einer Wassertemperatur von 0° noch in ziemlichen Mengen fand. Untersuchungen bei noch tiefer liegenden Temperaturen hielt ich für zwecklos. Meine Versuche im Laboratorium habe ich zunächst bei Temperaturen ausgeführt, welche zwischen 6° C. und 25° C. schwankten. Hierbei stellte sich das bemerkenswerte Ergebnis heraus, daß innerhalb dieser Grenzen weniger die Temperatur,

[1]) Comte Victor Trevisan, Prospetto della Flore Euganea.

[2]) Löwenstein 1903. Ber. bot. Ges. 21. 317.

als die Anwesenheit genügender Schwefelwasserstoffmengen der für das Wachstum wichtigste Faktor war. Es war wohl ein Unterschied zu bemerken, wenn eine Glocke bei 6° im ungeheizten Gewächshaus stand und die andere Glocke bei 20° im geheizten Arbeitsraum. Aber die Verschiedenheiten waren bei diesem Intervall doch recht unbedeutend. Auch ein öfteres Erneuern des Gasgemisches bei Temperaturen unter 20° brachte keine wesentliche Steigerung der Lebenstätigkeit.

Um nun Untersuchungen bei höheren Wärmegraden anzustellen, setzte ich in mehreren Glocken an Stelle des Glasrohres einen zweiten Glashahn, damit die Monometer leicht zu entfernen waren und nicht bei dem Hineinbringen in den Thermostaten hinderten. Das Gasgemisch wurde dann genau in derselben Zusammensetzung gegeben wie bisher, nur war es hier nötig, dasselbe öfters zu erneuern, da sich bei Temperaturen über 25° eine beträchtliche Steigerung der Lebenstätigkeit bemerkbar machte. Diese Steigerung des Wachstums und der Vermehrung hielt bei beiden Formen bis 30° an, darüber hinaus aber nicht weiter. Oberhalb von 35° ließ Thiothrix plötzlich nach, bei 37°—38° trat schon der Tod ein. Beggiatoa vertrug noch ganz gut 40—41°, erst bei 45° trat Zerfall der Fäden und schnelles Absterben ein. Nach den Beobachtungen, welche ich an Beggiatoakulturen gemacht habe, die längere Zeit nahe der oberen Grenze gehalten waren, ist es sehr wahrscheinlich, daß es keine allzu lange Zeit erfordern würde, die Temperaturgrenze durch Gewöhnung noch weiter nach oben zu verschieben, denn es trat nach einiger Zeit wieder lebhaftere Vermehrung auf. Genauer habe ich diese Frage nicht untersucht.

Ehe ich in der Wiedergabe meiner Beobachtungen weiter fortfahre, will ich etwas eingehender besprechen, in welcher Weise ich bei allen meinen Untersuchungen ein Maß für die Schnelligkeit des Ablaufs der Lebensvorgänge hatte. Es kommen dafür besonders die Vermehrung der Bakterienfäden und die Geschwindigkeit der Bewegung in Betracht. In ganz jungen Kulturen kann man oft durch Auszählen die Vermehrung feststellen. Jedoch ist es auch sonst, wenn man die Kulturen meist täglich, mindestens aber jeden zweiten Tag in Händen hat, leicht, festzustellen, ob eine Vermehrung stattgefunden hat oder nicht. Man sieht mit einiger Übung sofort, ob bei gleichem Ausgangsmaterial auf den unter dem Mikroskop beobachteten Stellen ungefähr die gleiche Zahl der Fäden vorhanden ist. In alten Kulturen bilden sich sehr oft kreisförmige Kolonien, die sich, vorausgesetzt, daß die Bedingungen andauernd gute sind, dann von Tag zu Tag vergrößern. Es kommen aber auch Wachstumsbilder vor, welche sehr lebhaft an die Schleier der Beggiatoen in Rohkulturen erinnern. Der ganze Boden der Petrischale ist dann von einem dichten Geflecht von Beggiatoafäden überzogen, aus welchem ganz regelmäßig dicke Faden-

büschel in die Flüssigkeit ragen. Daß es sich in solchen Kulturen um lebhafte Vermehrung handelt, unterliegt wohl keinem Zweifel, wenn man bedenkt, daß als Ausgangsmaterial ein winziges Flöckchen Beggiatoa verwendet worden war. Bei Thiothrix war auch in bezug auf die Vermehrung die Beobachtung wesentlich einfacher. Es konnte leicht eine dünn bewachsene Stelle bezeichnet werden, zuweilen auch eine Skizze davon entworfen werden. Bei jeder Kontrolle fand man dann bequem die Stelle wieder und konnte durch Vergleiche die Vermehrung feststellen. Es war dann zu sehen, wie die Fäden zunächst in die Länge wuchsen und dann durch Abschnürung von Gliedern die Fläche immer dichter bedeckten.

Einen Einfluß des Lichtes auf das Wachstum der farblosen Schwefelbakterien habe ich nie beobachten können, die Kulturen bei Licht wie bei Dunkelheit waren stets gleich gut. Auch die von Winogradsky beschriebenen phototaktischen Bewegungen der Beggiatoafäden habe ich nicht gesehen. Dies mag seinen Grund darin haben, daß trotz sonstiger großer Übereinstimmung einzelne Beggiatoaarten einige abweichende Eigenschaften haben. Zum Schluß mögen hier noch einige morphologische und entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen wiedergegeben werden, welche allerdings zur Physiologie kaum nähere Beziehungen haben, mir aber doch der Mitteilung wert scheinen.

V. Einige morphologische und entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen.

In seiner Abhandlung zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien beschreibt Winogradsky Beggiatoa wie folgt: „Zur Gattung Beggiatoa rechne ich ausschließlich farblose, scheidenlose, immer frei bewegliche, nie am Substrate befestigte Fäden sehr verschiedener Dicke.“ In allen Büchern, welche sich mit der Systematik der Schwefelbakterien befassen, findet man diese Angaben wiederholt, besonders auf die Scheidenlosigkeit wird ziemliches Gewicht gelegt. Ich hatte nun bei meinen Versuchen, einzelne Fäden von Beggiatoa zu isolieren, Gelegenheit zu beobachten, daß die Beggiatoen ebenso wie die Oscillarien eine Gallertscheibe besitzen. Die Fäden, bei denen die Absonderung gelungen war, starben jedesmal in kurzer Zeit ab, und es war dann deutlich zu sehen, wie genau in der Form des Fadens eine zarte Scheide lag, während die Zellen mit ihrem Schwefelkügelcheninhalt[1]) außerhalb lagen, also die zarte Hülle ge-

[1]) Eine Speicherung von Schwefel in den Zellen der Oscillarien habe ich nie beobachten können. Sicher ist aber, daß sie bei Anwesenheit von Licht in einer schwefelwasserstoffhaltigen Atmosphäre beliebig lange leben können. Vergl. hierzu: Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 129.

sprengt hatten. Somit wäre wohl ein weiteres Trennungsmerkmal zwischen den Beggiatoen und Oscillarien gefallen, denn abgesehen von dem Gehalt an Schwefeltröpfchen und der Farblosigkeit der Beggiatoen gleichen diese den Oscillarien bis ins Kleinste.

Meine Versuche, tiefer in den Mechanismus der eigentümlichen Bewegungsart von Beggiatoa einzudringen, führten zu keinem befriedigenden Resultate. Trotzdem will ich die darauf bezüglichen Beobachtungen hier wiedergeben. Die Enden des Fadens sind stets leicht umgebogen, genau wie bei Oscillaria. Kriecht nun der Beggiatoafaden vorwärts, so kann man sehen, wie er sich um seine Längsachse dreht, und zwar im entgegengesetzten Sinne des Uhrzeigers. Trifft der Faden auf einen Widerstand, so kehrt er einfach die Bewegungsrichtung um, das andere Ende geht voran, wobei wieder der gleiche Sinn der Drehung um die Achse eingehalten wird. Bei den unzähligen von mir beobachteten Fäden habe ich nie eine Linksdrehung festgestellt. Interessant waren auch die Bewegungen der Fäden in etwas zäheren Medien, z. B. $^{1}/_{2}$prozentigem Agar. Es schob sich dabei nicht ein Fadenende mit der Spitze durch die Agarschicht, sondern die Mitte des Fadens wurde nach vorn gedrückt, indem die beiden Enden den ganzen Faden fortzuschrauben schienen. Diese Art des Durchdrückens habe ich übrigens nur bei der dicksten (4 μ) der von mir kultivierten Beggiatoaformen beobachtet.

Endlich muß ich noch einige Untersuchungen über Thiothrix mitteilen. Da ich über sehr gutes Thiothrixmaterial verfügte, interessierte es mich, an ihm einmal die von Winogradsky beschriebene[1]), komplizierte Art der Fortpflanzung bei dieser Bakterienform zu beobachten. Wohl gelang es leicht in einer Kultur, welche massenhaft Thiothrix enthielt, eine Stelle zu finden, an der die Fäden die von Winogradsky beschriebenen Abschnürungen der Endglieder zeigten. Ich habe solche Stellen dann stundenlang, oft tagelang unter fortwährender mikroskopischer Beobachtung gehabt. Damit Erschütterungen vermieden waren, stand das Mikroskop auf einer in die Wand eingemauerten Schieferplatte. Nicht einmal war es mir vergönnt, die interessante aktive Loslösung der Endglieder zu beobachten. Eine Ablösung fand wohl statt, nach welcher sich die Stäbchen mit einer Gallertscheibe an das Glas anhefteten, aber von einer Eigenbewegung bei diesen Vorgängen war nichts zu bemerken. Ich bin nicht ganz im klaren, welche Fehler meiner Versuchsanordnung zugrunde gelegen haben könnten. Möglich wäre es jedoch, daß die Thiothrixarten sich in bezug auf die Fortpflanzung verschieden verhalten.

Meine sonstigen Beobachtungen über die Morphologie von Thiothrix

---

[1]) cf. S. 1. 3, II.

stimmen vollkommen mit denen von Winogradsky überein. Ja ich kann sogar die von verschiedenen Seiten gemachten Versuche, zu beweisen, daß die dunklen stark lichtbrechenden Körnchen in den Zellen Gasvacuolen oder sonstige Stoffe seien, nicht aber Schwefel, wie Winogradsky angibt, widerlegen. Es handelt sich hierbei um zwei Arbeiten, eine von Wille[1]) und eine von Molisch[2]). Ersterer führt zum Beweis der Gasnatur der Kügelchen folgende Tatsachen auf:

1. die optischen Verhältnisse, welche mit Bestimmtheit auf Gasbläschen hindeuten;
2. daß die Gasvacuolen bei Erwärmung bei einer Temperatur verschwinden, die bedeutend niedriger liegt, als der Schmelzpunkt des Schwefels;
3. daß mehrere naheliegende Vacuolen unter gewissen Verhältnissen (z. B. bei Zusatz von Kalilauge) zusammenschmelzen;
4. daß sie auffallend leicht löslich sind in Alkohol, während Schwefel schwer auflöslich ist.

Molisch widerlegt nun auf Grund seiner Untersuchungen über Gasvacuolen bei schwebenden Cyanophyceen Willes Ansicht, daß die dunklen Körnchen bei Thiothrix Gasvacuolen sind. Dabei läßt er aber die Frage, ob die Körnchen nun wirklich aus Schwefel bestehen oder nicht, offen. Ja, er scheint sogar ziemlich bestimmt einen anderen Stoff in den Thiothrixzellen anzunehmen.

Ich habe nun diese Frage einer eingehenden Prüfung unterzogen, denn wäre die Ansicht der beiden eben genannten Forscher richtig, so müßte man Thiothrix aus der Reihe der Schwefelbakterien streichen. In einer Rohkultur wurde eine größere Menge von Thiothrixfäden gesammelt und gründlich gewaschen. Darauf ließ ich die Fäden auf einem Objektträger eintrocknen. Es traten dabei keine Veränderungen des Zellinhalts ein. Auch nicht, als ich bis 100° C erwärmte, erst nach stärkerem Erhitzen, bis über den Schmelzpunkt des Schwefels, zeigten sich deutliche Veränderungen. Die Fäden wurden zerstört, und als ich abkühlte, fand sich rund um die Stelle, wo die Thiothrixfäden gelegen hatten, ein gelber Ring, dieser verschwand bei nochmaligem Erhitzen des Objektträgers im Bunsenbrenner, wobei sich dann, dem Geruch deutlich wahrnehmbar, Dämpfe von Schwefligsäureanhydrid (SO_2) entwickelten. In den Resten der Thiothrixfäden war keine Spur schwarzer Körnchen mehr zu finden. (Nach neueren Untersuchungen scheint auch der Schmelzpunkt fein verteilter Stoffe tiefer zu liegen

---

[1]) N. Wille, Über Gasvacuolen bei einer Bakterie. Biolog. Zentralbl. 1902. S. 257—262.

[2]) Hans Molisch, Anhang zu: Die sogenannten Gasvacuolen und das Schweben gewisser Phycochromaceen. Bot. Ztg. 1903. 1. Abt. S. 57 u. 58.

als der für gleiche Stoffe in größeren Massen.) Ich habe dann weiter die Löslichkeitsverhältnisse des Schwefels von Beggiatoa und Thiothrix in Alkohol untersucht und gefunden, daß sich die Körnchen beider Formen gleichmäßig schnell auflösen. Daß mehrere naheliegende Vacuolen unter gewissen Umständen mit einander verschmelzen, hat bereits Winogradsky beschrieben; daß dies unter dem Einfluß von Kalilauge noch öfter der Fall ist, finde ich gar nicht so sonderbar, da es doch sehr wahrscheinlich ist, daß die Kalilauge organische Stoffe weglöst und so den halbflüssigen Schwefelkügelchen eine Verschmelzung erleichtert, da die in den lebenden Zellen sie einhüllenden Plasmamembranen zerstört sind. Außerdem überzeugte ich mich von der Schwefelnatur der dunklen Gebilde in den Thiothrixzellen durch einige Beobachtungen an Objektträger-Kulturen. Es zeigte sich, daß die Kulturen, die längere Zeit ohne H_2S-zufuhr blieben, ihren körnigen Inhalt verloren und zugrunde gingen. Wurde jedoch H_2S gegeben, so traten sehr schnell dunkle Kügelchen auf. Nach all dem, was diese Kulturen zeigten, kann ich nur nochmals sagen, daß sich alle diesbezüglichen Angaben Winogradskys bestätigten. Durch diese Darlegungen, hoffe ich, sind die von Wille aufgeworfenen Einwände wohl gänzlich gegenstandslos geworden, sodaß man Thiothrix ebenso wie Beggiatoa als ein fädiges Schwefelbakterium bezeichnen muß.

Eine Bestätigung dafür, daß Thiothrix als typisches Schwefelbakterium zu bezeichnen ist, mag auch noch der Nachweis bilden, daß hier wie bei Beggiatoa das Endprodukt der Schwefeloxydation Schwefelsäure ist. Da sich bei Winogradsky keine bestimmten Hinweise darauf fanden, daß er die Bildung von Schwefelsäure auch bei Thiothrix festgestellt hatte, habe ich den Nachweis zu führen gesucht. Zunächst wurde seine Methode mit Chlorbarium an Beggiatoa geprüft und dann mit gleichem Erfolg für Thiothrix angewendet, so daß ich mich auf Grund meiner Beobachtungen zu obigem Schluß berechtigt halte.

VI. Zusammenstellung der wesentlichen Resultate.

Die beiden Schwefelbakterienformen Beggiatoa und Thiothrix oxydieren Schwefelwasserstoff und speichern Schwefel auf; dieser besteht bei beiden Formen aus kleinen Tröpfchen weichen amorphen Schwefels.

Der Schwefel wird zu Schwefelsäure oxydiert und diese durch die vorhandenen Karbonate neutralisiert.

Ohne Schwefelwasserstoff können Lebens- und Bewegungserscheinungen nicht stattfinden, es tritt Absterben ein[1]).

---

[1]) Bis hierher waren die Resultate bereits Winogradsky bekannt.

Die Schwefelbakterien können in einer Flüssigkeit gedeihen, welche frei ist von jeder Spur organischer Stoffe.

Jedoch vermögen sie ohne Schädigung organische Stoffe in nicht zu hohen Konzentrationen zu ertragen, ohne dabei aber die geringste Förderung in ihren Lebensvorgängen zu erfahren. Notwendig ist eine nicht zu geringe Menge von Karbonaten der Alkalierdmetalle, die wahrscheinlich zur Bindung der Schwefelsäure dienen.

Beggiatoa und Thiothrix verwenden Ammoniumsalze als Stickstoffquelle.

Als Kohlenstoffquelle kommt allein Kohlensäure in Betracht.

Ich möchte nun noch die Schlußbetrachtung der Winogradskyschen Arbeit einer durch die vorliegenden Ergebnisse notwendig gemachten Prüfung unterziehen. Seine Annahme, daß wir in dem Schwefeloxydationsprozeß einen der Atmung entsprechenden Prozeß vor uns haben, wird durch diese Untersuchungen wohl bestätigt, zumal da nun der Nachweis geführt ist, daß eine Kohlensäure-Ausscheidung durch die Schwefelbakterien unmöglich ist, während Winogradsky doch mit der Möglichkeit einer solchen rechnet. Auch der Einwand, welchen Winogradsky sich selbst bei Besprechung der Wirkung organischer Stoffe macht, daß diese vielleicht doch günstig auf die Ernährung einwirken könnten, und daß die Schwefeloxydation nur ein Hilfsmittel ist, welches diese Organismen in nährstoffarmen Flüssigkeiten gebrauchen, ist durch die vorliegende Arbeit erledigt.

Als Anhang folgen nun noch einige genaue Protokolle und eine Übersicht über die Physiologie der bisher erforschten Bakterien mit autotropher Ernährung.

Übersicht über die physiologischen Eigenschaften autotropher Bakterien.

		Energiequelle	Wirkung organischer Stoffe	Bedeutung des Sauerstoffes	Bedeutung der Kohlensäure	Stickstoffquelle	Temperaturwirkung	Name des Autors
Nitrobakterien	Nitritbakterien	NH_3	Organische Stoffe wirk. hemmend, bzw. aufhebend, nie ernährend	Sauerstoff ist zur Ernährung unbedingt notwendig	Fast sicher einzige Kohlenstoffquelle	Ammoniak (vielleicht auch Nitrit)	Grenzen 5° u. 55° 34° höchste Wirkung	Sergius Winogradsky [1]
	Nitratbakterien	$NaNO_3$	können sich an organ. Stoffe anpassen, aber sie nie verarbeiten		Wahrscheinlich einzige C-Quelle	Nitrite	Dgl.	= [2]
Eisenbakterien	Leptothrix ochracea	$FeH_2(CO_3)_2$	Org. Stoffe waren nur in geringen Mengen vorh. wahrscheinl. nicht nötig		Nach Winogr. wohl als C-Quelle verwendbar	Nitrate	Gut bei 23–25° 5° u. 40° Grenzen	= [3]
	Spirophyllum ferrugineum	$FeH_2(CO_3)_2$	In gering. Mengen nicht schädl., doch ohne Einfl. auf das Wachstum		CO_2 notw., doch läßt sich direkter Nachweis nicht führen		Ausgesprochen Kälte liebend 0—22°	Lieske [4]
Wasserstoffbakterien	Hydrogenomonas vitrea; Hydrogenomonas flava	H	Die organischen Stoffe können an Stelle des Wasserstoffes treten		Freie Kohlensäure kann nicht durch Karbonat ersetzt werden	NH_4Cl, vielleicht auch organische Stickstoffquelle	Am günstigsten 30—35°	Niklewski [5]
Methan-Bakt.	Bacillus methanicus	CH_4	Organische Stoffe in ihrer Wirkung nicht untersucht		Nicht notwendig, da C aus CH_4 verarbeitet	$MgNH_4PO_4$	Am günstigsten 30–37°	Söhngen [6]
Schwefelbakterien	Thionsäurebakterien	$Na_2S_2O_3$	Organische Stoffe nicht schädlich, doch auch nicht fördernd		CO_2 notwendig, organische Substanz ersetzt CO_2 nicht	KNO_3 oder NH_4Cl	—	Nathansohn [7]
	Beggiatoa, Thiothrix	H_2S	In schwach. Konzentr. unschädl., jedoch ohne Einfluß auf Ernährung		CO_2 einzige Kohlenstoffquelle	Ammoniumsalze	0—42° Begg. 0-37° Thiothrix 30-35° am günst.	Winogradsky [8]) Siehe auch vorliegende Arbeit

[1]) [2]) Sergius Winogradsky, 1890—91. Recherches sur les organismes de la nitrification. Annales Institut Pasteur. [3]) Sergius Winogradsky, 1888. Bot. Ztg., Bd. 46, S. 261. [4]) Rudolf Lieske, Jahrbücher für wiss. Botanik 1911, Bd. 49, S. 91. [5]) Bronislaw Niklewski, Ein Beitrag zur Kenntnis wasserstoffoxydierender Mikroorganismen. I. Bull. Ac. Sc. Cracovie p. 911—932. 1906. II. Zentralblatt f. Bakteriologie etc. 2. Abt., Bd. 20, S. 469. [6]) N. L. Söhngen, Zentralblatt für Bakteriologie. II. Abt., Bd. XX., Nr. 17/18, S. 513. [7]) Alexander Nathansohn, 1902. Mitt. d. zoolog. Station Neapel, 15, 655. [8]) Winogradsky, siehe Seite 336 dieser Arbeit.

Protokolle.

Glocke I.

15. 12. 11.	Gasgemisch: 0,8 mm H_2S, 30 mm O, 25 mm CO_2, H. 6 Schalen mit natürlichem Langenbrücker Schwefelwasser und Beggiatoamaterial.
17. 12.	Alle Fäden liegen in einem Klümpchen zusammen und sind tot. Wieder Kulturen in gleicher Weise angesetzt. Bei Impfen der Beggiatoen Reizung möglichst vermieden.
20. 12.	Die Kulturen haben das gleiche Aussehen wie die am 17. Nochmals 9 neue Kulturen mit frischem Material.
23. 12.	Wie am 17. und 20. Neue Kulturen.
24. 12.	Kulturen von 23 tot. Also kann die Ursache des Absterbens nicht die lange Zeit sein, während welcher das Gemisch der Gase nicht erneuert wurde. Wieder 9 frische Kulturen.
27. 12.	Da diese wieder tot sind anderes Gasgemisch: 0,8 mm H_2S, 20 mm O, 25 mm CO_2, H.
29. 12.	Von den neuen Kulturen sind 8 gut, die Fäden kriechen auf dem Boden der Schale. Eine Kultur tot.
1. 1. 12.	Die Petrischalen zeigen alle recht gute Beggiatoafäden. Diese bilden oft deutlich sichtbare, weiße Flecke.
3. 1.	Wie am 1. 1.
6. 1.	Desgl.
9. 1.	Die Kulturen in den Schalen sind gut, doch meist kriechen die Fäden nicht weit auseinander.
12. 1.	Desgl.
15. 1.	Nichts Neues.
18. 1.	Ebenso. Fäden wenig ausgebreitet.
20. 1.	Neues Gasgemisch, da andere Glocken bei tieferem O-Druck bessere Kulturen aufweisen. 9 Kulturen.
23. 1.	Die neun Kulturen sind ohne Ausnahme gut, die Fäden über die ganze Schale verbreitet. Die beiden besten

Kulturen sind zu Versuchen in kohlensäurearmer Atmosphäre verwendet. Dafür 2 neue.

26. 1. Fäden überall gut ausgebreitet, einzelne Schalen sehr rein, deutliche Vermehrung ist zu merken. Fäden sehr beweglich.

30. 1. Die Kulturen sehen sehr gut aus und haben sich stark vermehrt. Noch vier Schalen mit gutgewaschenem Material dazu.

4. 2. Alle Kulturen sehr schön, deutliche Vermehrung. An den Stellen, wo viele Fäden bei einander liegen, sind die sonst gleichmäßig ausgefallenen Kalkkristalle weggelöst.

7. 2. Alle Kulturen sehen sehr gut aus und zeigen deutliche Vermehrung, sind auch verhältnismäßig rein.

Jetzt nur 2 Kulturen mit natürlichem Wasser, alle anderen erhalten Nahrlösungen: 2 Kulturen mit Knop'scher, 2 mit Sachs'scher Nährlösung.

9. 2. Die zwei Kulturen in natürlichem Wasser sehr gut, die 4 anderen tot. Nochmals neue Kulturen: 2 mit Knop, 2 mit Sachs, 2 mit v. d. Crone.

13. 2. In den künstlichen Lösungen wieder alles tot. Die beiden alten gut. Nochmals neue Kulturen.

15. 2. Bis auf die 2 alten wieder alles tot. Nun künstliche Lösung (vergl. S. 363) mit $Ca(NO_3)_2$ in 6 neuen Kulturen.

17. 2. Wieder keine guten Resultate. Die zwei Kontrollkulturen sind ausgezeichnet. Nun k. L. + $Ca(NO_3)_2$ oder k. L. + $(NH_4)_2SO_4$ von jedem drei Kulturen.

20. 2. Bis auf die beiden alten wieder keine guten Resultate. Neue Kulturen, wie am 17.

23. 2. Alle neuen Kulturen schlecht.

26. 2. Desgl.

30. 2. Desgl.

2. 3. Da alle vereinfachten Lösungen nicht brauchbar sind habe ich eine Lösung hergestellt, die möglichst genau dem Langenbrücker Wasser entspricht. Dazu nun teils $Ca(NO_3)_2$, teils $(NH_4)_2SO_4$ (vergl. S. 364), teils keine Stickstoffverbindung. Von jedem 2 Kulturen.

5. 3. Die 6 neuen Kulturen sehen ziemlich schlecht aus, viele Fäden zerfallen, die lebenden nur langsam beweglich.

7. 3. Desgl. Die in N-freier Lösung anscheinend alle tot. Etwas besser die in den beiden anderen Lösungen.

9. 3. Desgl.

11. 3. Die Kulturen mit $(NH_4)_2SO_4$ zeigen ganz bedeutend besseres Aussehen, die Fäden haben sich deutlich verlängert.

13. 3. Alle Kulturen, besonders die mit k. W + $(NH_4)_2SO_4$ sehr gut. Die mit $Ca(NO_3)_2$ jedoch schlecht.

16. 3. Desgl. Kulturen mit $Ca(NO_3)_2$ tot.

(Da ich an Parallelkulturen in anderen Glocken bereits gute Reinkulturen erzielt hatte, prüfte ich nun auch die Kulturen aus Glocke I und benutzte zugleich die 6 verschiedenen Lösungen.) Die zwei alten Kulturen mit natürlichem Wasser sind sehr gut, haben sich stark vermehrt.

18. 3. Alle 8 Kulturen sehen sehr gut aus, die mit organischen Stoffen sind frei von anderen Bakterien. Noch 2 Kontrollkulturen mit k. W. + $(NH_4)_2SO_4$.

20. 3. Alles gut und rein. Sämtliche Kulturen zeigen völlig gleichmäßiges Verhalten der Fäden.

23. 3. Wieder alles gut. Die Kulturen mit $(NH_4)_2SO_4$ übertreffen die mit natürlichem Wasser an Schnelligkeit der Vermehrung. In den Lösungen (natürl. Wasser), die Ammoniumsalze enthalten, ist auch eine Steigerung festzustellen.

27. 3. Dieselben Resultate wie am 23. 3.

Die Notizen lauten nun ähnlich bis zum Abschluß der Untersuchungen am 14. 4. 1912.

Ebenso wie in Glocke I für Beggiatoa wurden in Glocke II für Thiothrix Versuche angestellt, die ganz entsprechend verliefen. Da die Protokolle der übrigen Glocken kaum etwas wesentlich Neues bringen, beschränkte ich mich auf die Wiedergabe der Notizen über zwei Versuchsreihen in kohlensäurefreier Atmosphäre.

Glocke IV.

24. 12. 11. Gasgemisch 0,8 mm H_2S, 30 mm Luft, 6 mm O, H. 4 sehr gute Kulturen verwendet.

29. 12. Alles tot. Nun Gasgemisch 0,9 H_2S, 15 mm O, 75 mm Luft. 6 neue, gute Kulturen, davon einige aus Glocke I. An Kohlensäure sind nur die Spuren aus den 75 mm Luft vorhanden.

1. 1. 12. Wieder alles tot. Nochmals neue Kulturen, sonst wie am 29.

3. 1. Wieder alles tot.

Die Versuche in dieser Form wurden fortgesetzt bis zum 26. 1. 12 Von da an wurde das oben (S. 344) angegebene Verfahren angewendet, um möglichst alle Spuren von Kohlensäure zu vermeiden. Die Versuchsreihe besteht aus drei sehr guten Kulturen aus Glocke I.

28. 1. Zwei dieser Kulturen sind tot.

29. 1. Die dritte ebenfalls tot.

Nun frische, teils länger in Kultur befindliche reine und andere erst aus Rohmaterial hergestellte Kulturen.

31. 1. Die erst frisch hergestellten Kulturen mit Rohmaterial sind nicht tot, die Fäden liegen alle rund um die Impfstelle herum, die in der Schale verstreuten Fäden sind alle tot. Im Mittelpunkt des Beggiatoenkreises befinden sich Paramaecien, Bakterien und Oscillarien, welche jedenfalls CO_2 für die Fäden liefern. Die reinen älteren Kulturen enthalten ausnahmslos tote Fäden. Auch Thiothrixkulturen sind schlecht, sogar die mit Verunreinigungen. (Wohl wegen der mangelnden Beweglichkeit.)

5. 2. 12. In einigen (5) Schalen (am 31. neu eingesetzt), die ohne Verunreinigungen sind, Schwefelbakterien tot. In den drei alten mit Verunreinigungen die bereits bekannte kreisförmige Anordnung um die Verunreinigungen.

12. 2. Die gleichen Ergebnisse wie bei den früheren Beobachtungen. In den drei alten, verunreinigten Kulturen sind die Fäden noch lebend. In den sechs neuen, reinen vom 5. 2. 12 keine lebendigen Fäden.

15. 2. Die gleichen Ergebnisse, die drei unreinen nicht schön.

19. 2. Neue reine und alte unreine Kulturen alle tot. Von diesem Tage an mit CO_2 und nun ausgezeichnete Kulturen.

Glocke V.

28. 1. 12. Gasgemisch 1,2 mm H_2S, 15 mm O, H, keine CO_2. Um die Kohlensäure möglichst zu beseitigen, wird die mit mehreren sehr guten Kulturen versehene Glocke möglichst weit ausgepumpt, dann kohlensäurefreie Luft, Schwefelwasserstoff und Wasserstoff, die beiden letzten Gase ohne besondere Behandlung hineingelassen.

31. 1. Mehrere Schalen mit Beggiatoa. In einigen sind die Fäden nicht tot, sondern haben sich in konzentrischen Kreisen um die Verunreinigungen in den Impfstellen geordnet. Die übrigen Schalen, die keine Bakterien und Paramaecien

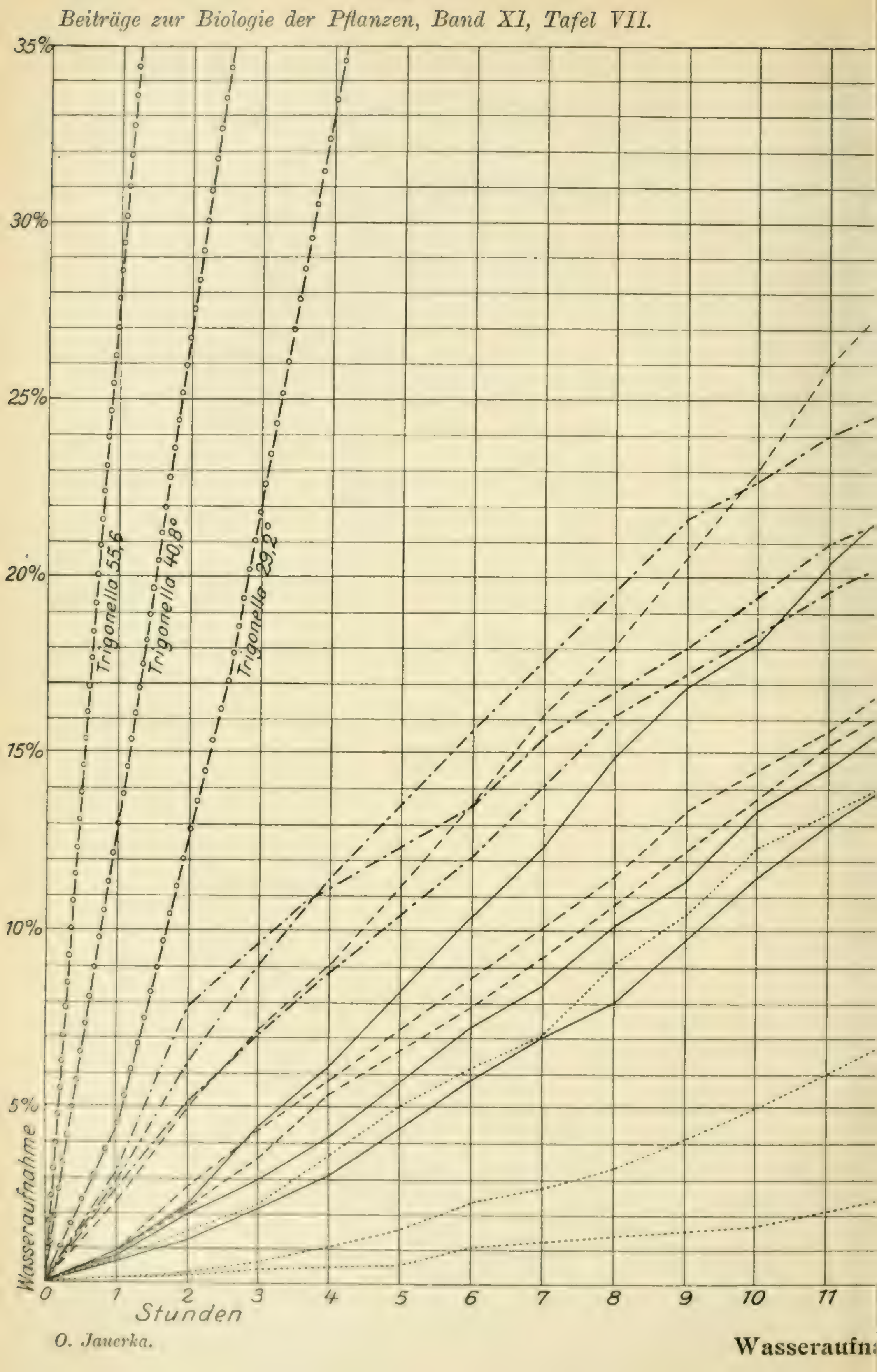
enthalten, haben nur abgestorbene Fäden von Schwefelbakterien. Lebende Kulturen geblieben, sonst Ersatz.

4. 2. 6 Kulturen, davon 4 reine tot, die beiden anderen unverändert. Thiothrix zeigt hierbei Zerfall in kurze Glieder, die aber, unter günstige Bedingungen gebracht, nicht wieder zu neuen Rasen anwachsen. Man darf also nicht annehmen, die Thiothrixarten reagieren auf ungünstige Lebensbedingungen durch Bildung von Vermehrungszellen. Die Untersuchungen wurden in gleicher Weise fortgeführt bis zum

13. 2., jedoch ergab sich hierbei nichts wesentlich neues.

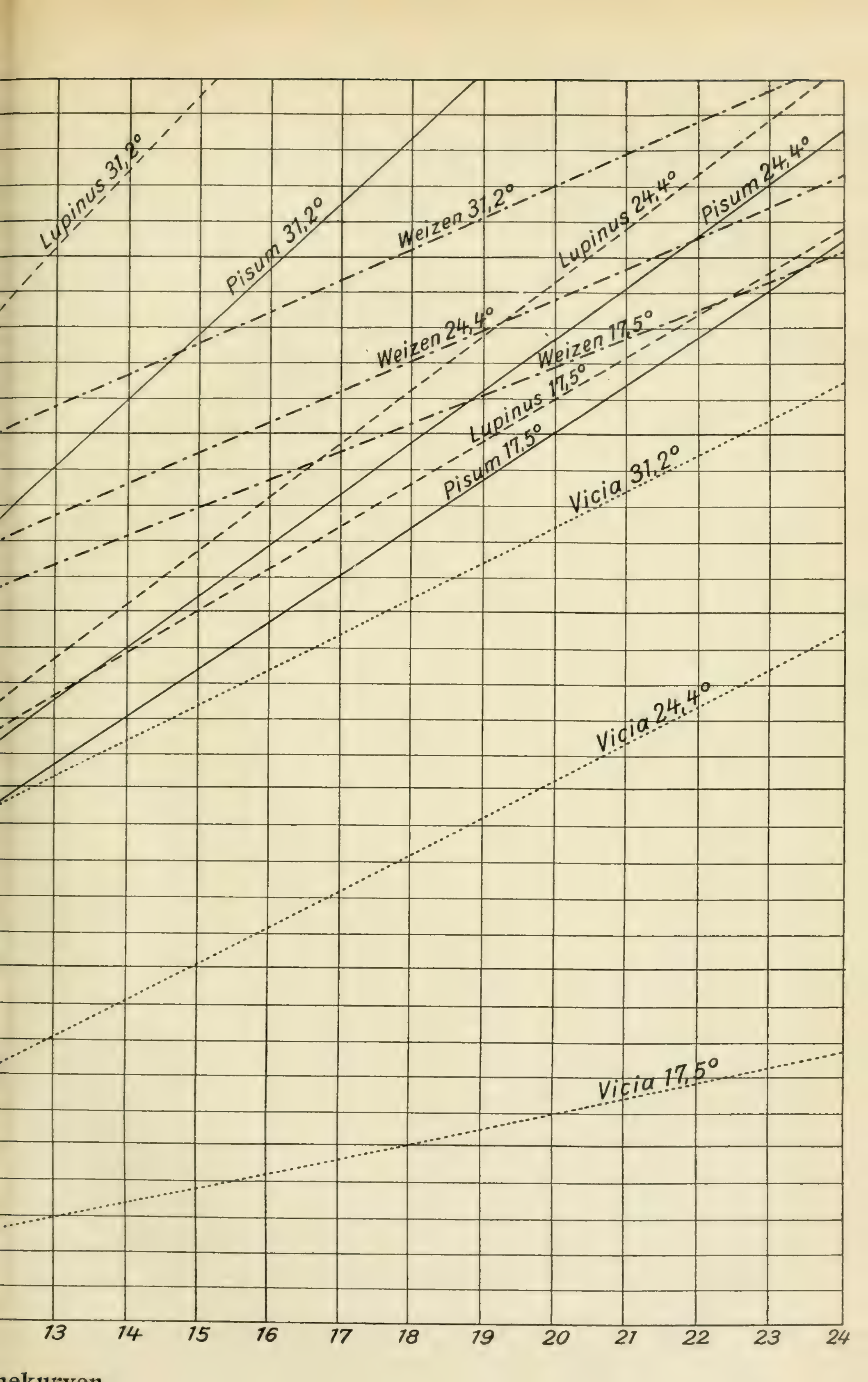
Druck von R. Nischkowsky in Breslau





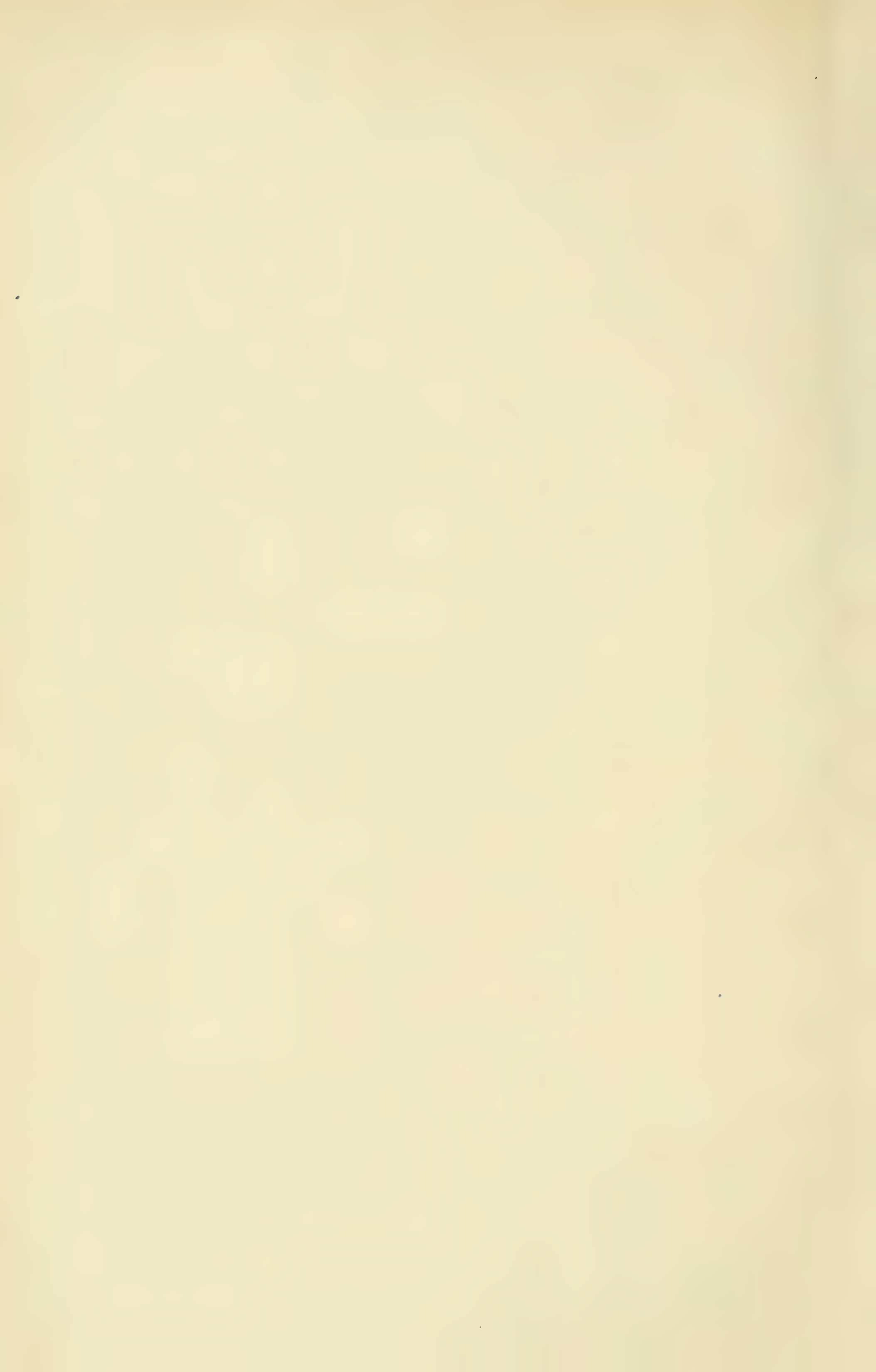
O. Jauerka.

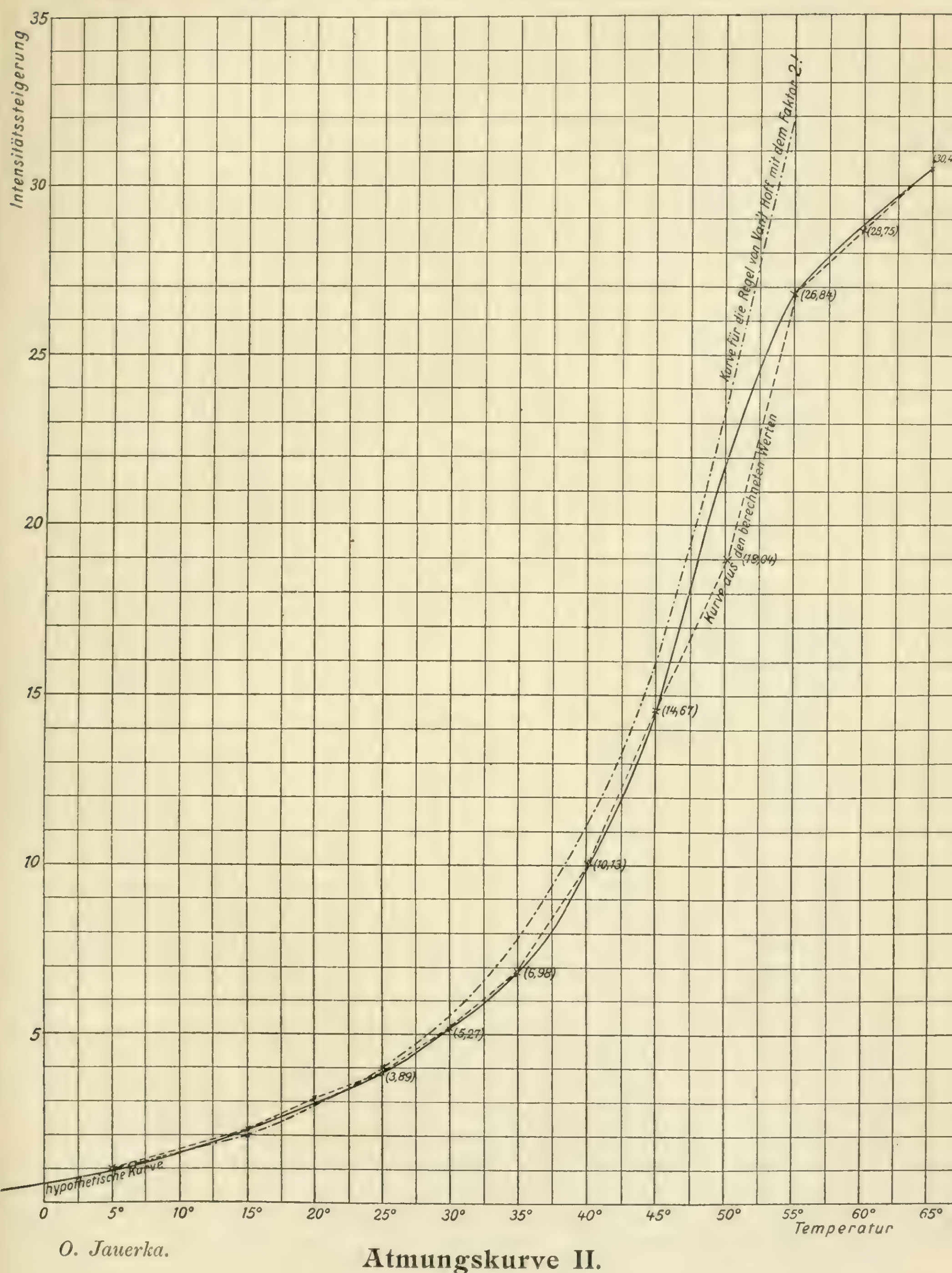
Wasseraufna



Lupinus 31,2°
Pisum 31,2°
Weizen 31,2°
Lupinus 24,4°
Pisum 24,4°
Weizen 24,4°
Weizen 17,5°
Lupinus 17,5°
Pisum 17,5°
Vicia 31,2°
Vicia 24,4°
Vicia 17,5°
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

nekurven

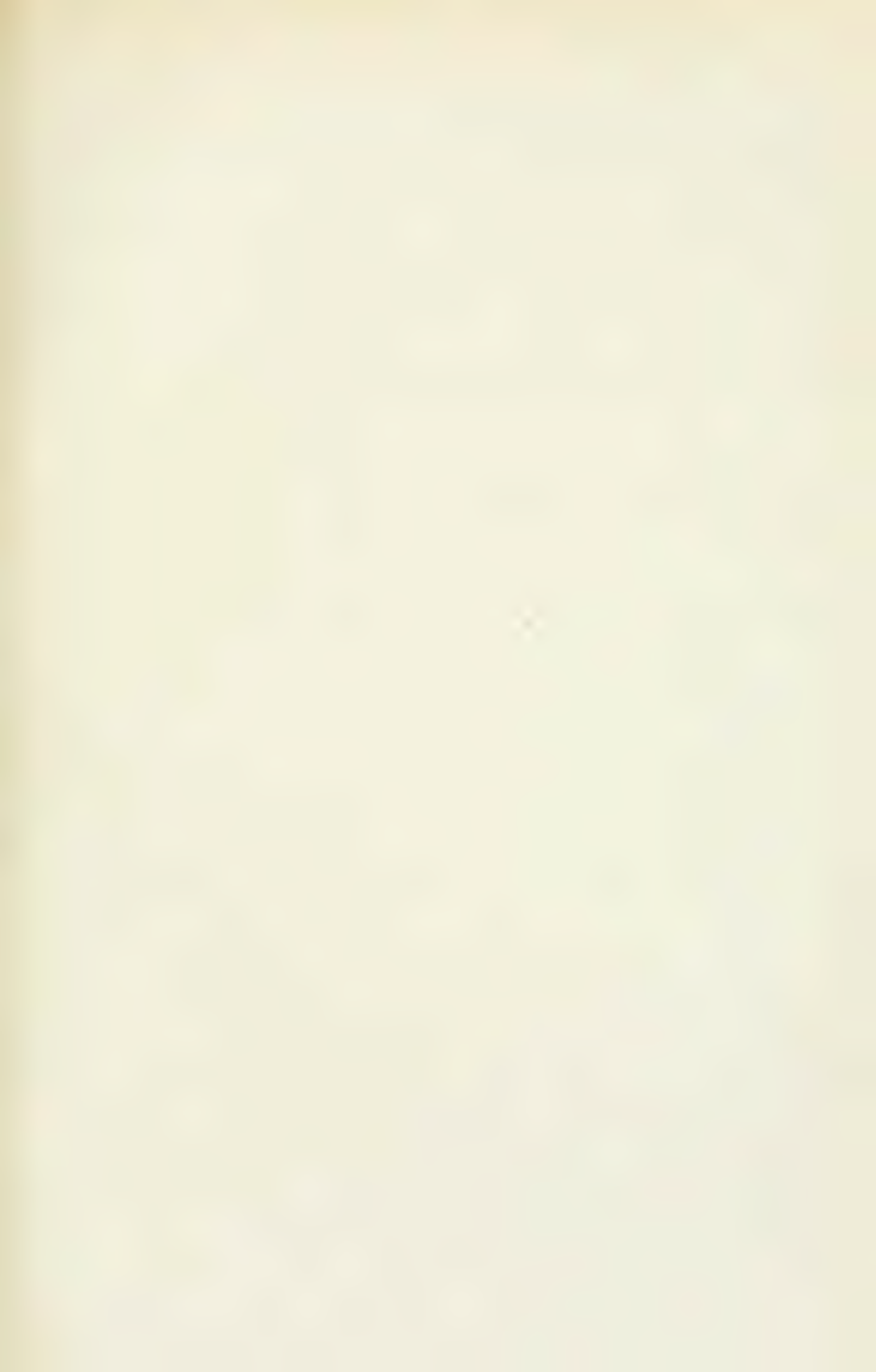




O. Jauerka.

Atmungskurve II.

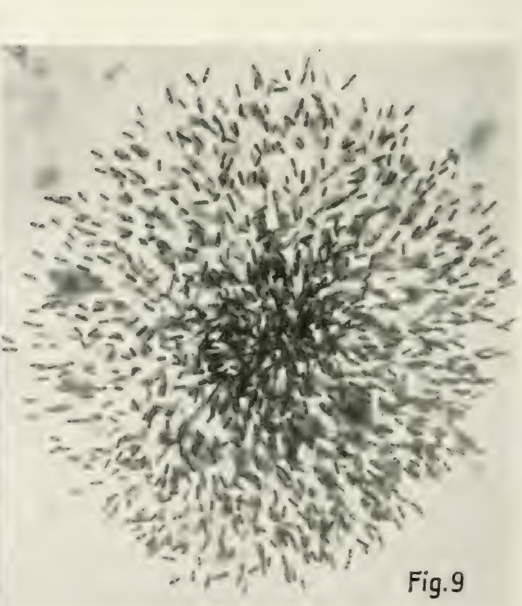














F. Pringsheim phot.



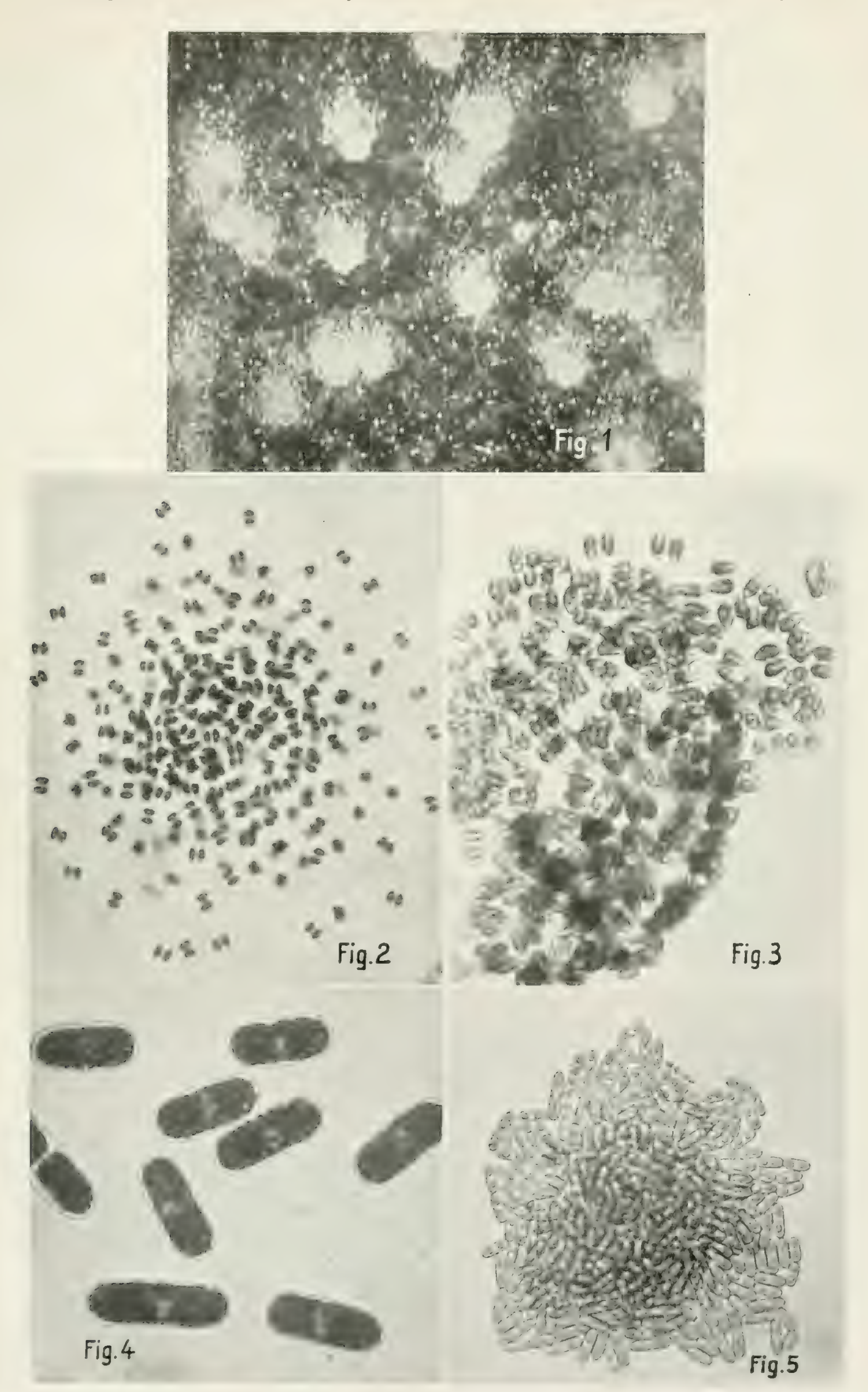






Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.





E. Pringsheim phot. *Louis Gerstner, Kunstanstalt, Leipzig.*



Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Begründet von

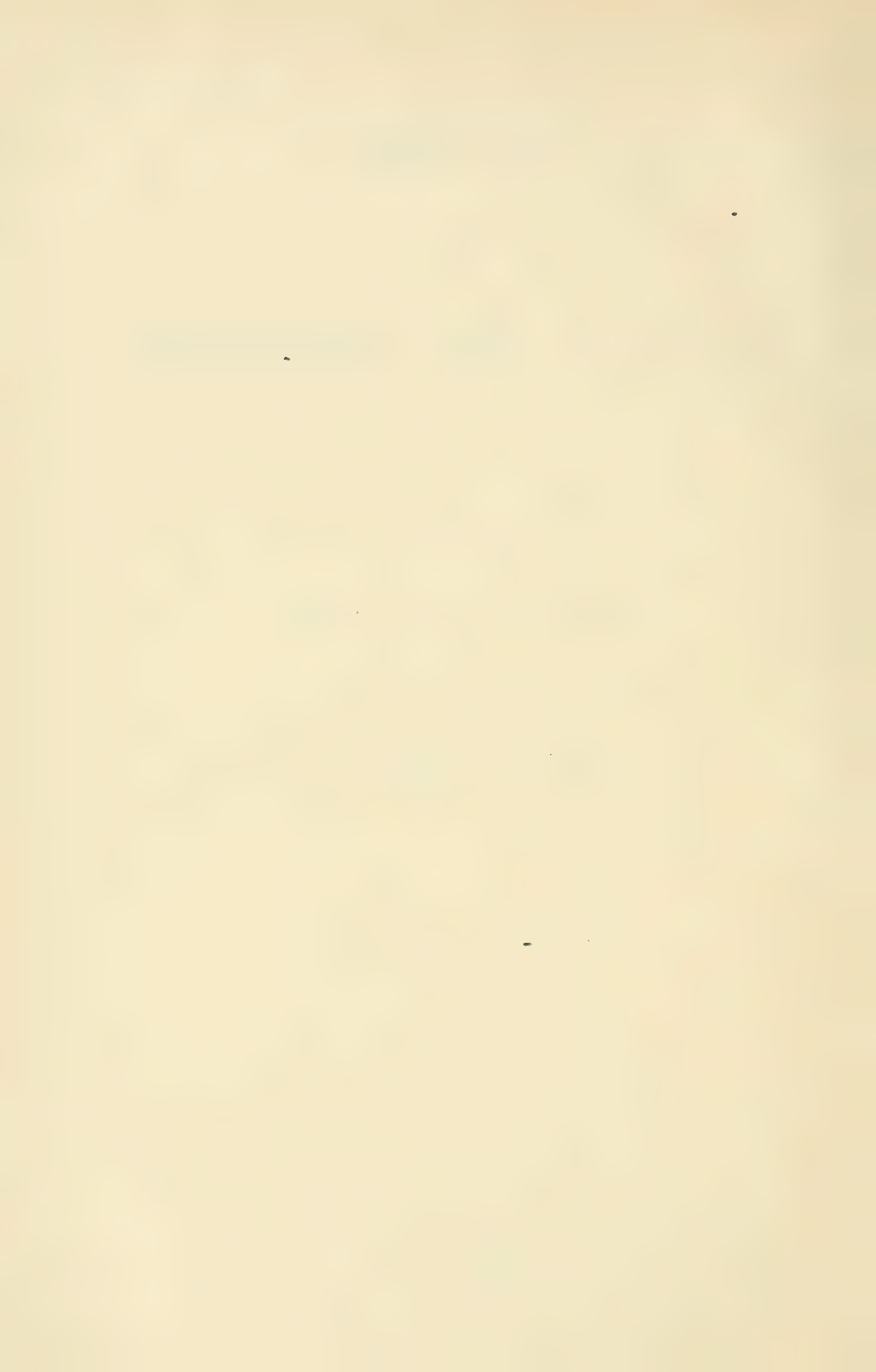
Professor Dr. Ferd. Cohn,

herausgegeben von

Dr. Felix Rosen,
Professor an der Universität Breslau.

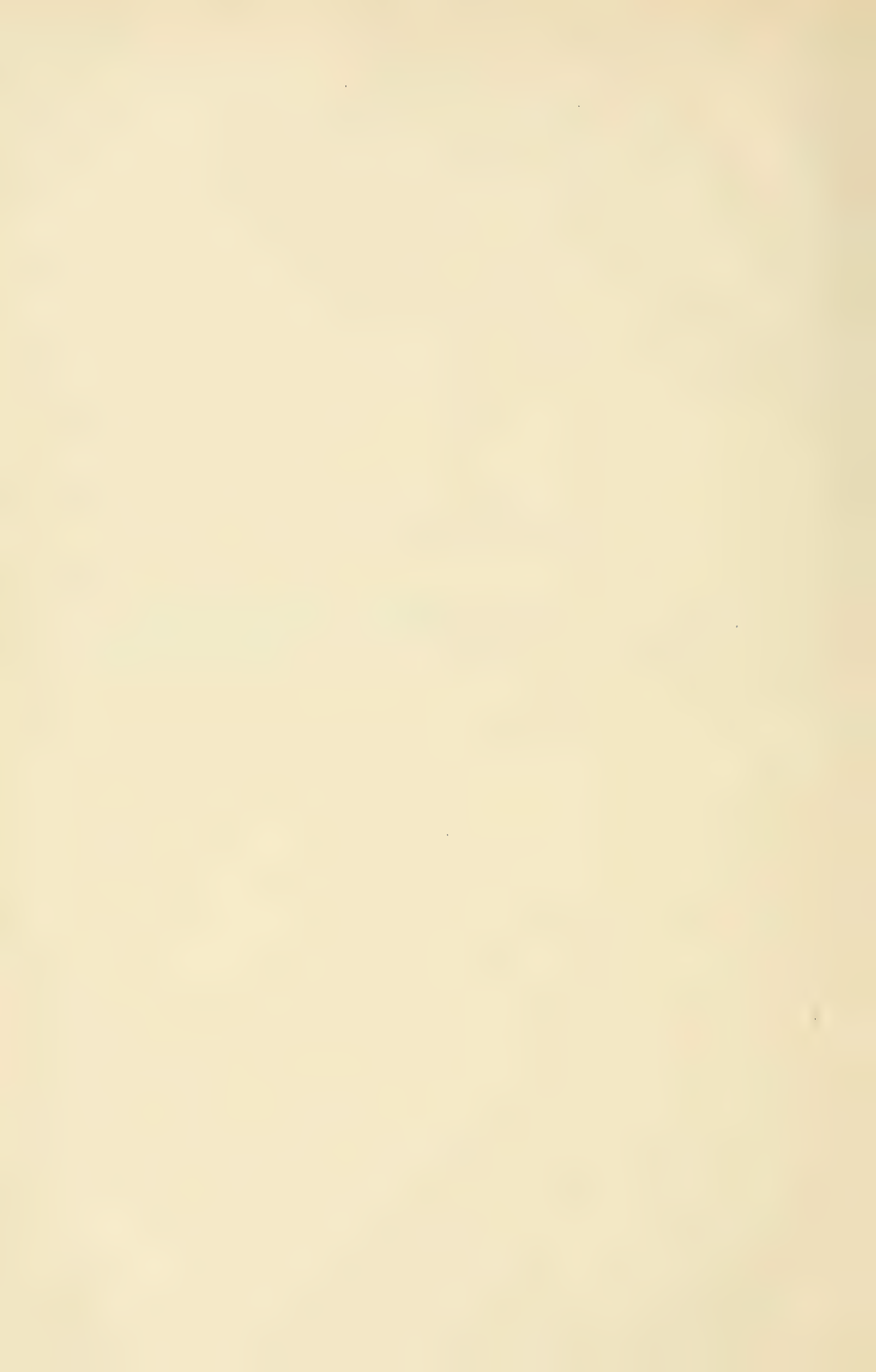
Elfter Band. Drittes Heft.
Mit vier Tafeln.

Breslau 1912.
J. U. Kern's Verlag
(**Max Müller**).



Inhalt des dritten Heftes.

Seite



Chromosomen, Nukleolen und die Veränderungen im Protoplasma bei der Karyokinese.

Nebst anschließenden Betrachtungen über die Mechanik der Teilungsvorgänge.

(Mit Tafel XI—XIV.)

Von **Henrik Lundegårdh.**

Einleitung.

Die Zellteilung, die bei höheren Organismen in der Regel mit einer Teilung des Kerns korrelativ verknüpft ist, ist ein sehr komplizierter Vorgang, bei dem man mehrere Einzelvorgänge unterscheiden kann. Diese singulären Erscheinungen verlaufen z. T. unabhängig von einander, und doch greifen sie bei der typischen Zellteilung in bestimmter Weise und in bestimmten Zeitmomenten ineinander ein, somit durch gesetzmäßiges Zusammenwirken ein komplexes, aber von außen her betrachtet einheitliches Geschehen bildend.

Diejenigen Stadien der Zellteilung, mit denen wir uns in dieser Arbeit beschäftigen werden, nämlich die mittleren, zeichnen sich eben dadurch aus, daß hier der Zeitpunkt liegt, wo die koordinierten Teilungsvorgänge in einander greifen. In der Prophase werden die Chromosomen ganz unabhängig von den morphologischen Erscheinungen im Protoplasma ausgebildet. Gleichzeitig kommt in dem letzteren eine dizentrische Anordnung zum Vorschein. Aber erst in der Metaphase beginnen diese beiden Erscheinungen, also die Chromosomen und die Polplasmen bezw. die Zentrosomen, dieses lebhafte Zusammenwirken, das die Separation der Chromosomenhälften und ihren Transport nach den Polplasmen zuwegebringt.

Wenn man sich folglich beim Studium der Ruhestadien, der jungen Prophasen und der Telophasen auf die Erscheinungen im Kern beschränken kann ohne Gefahr, dabei irgendwelche wichtigen morphologischen Korrelationen mit dem Plasma zu übersehen, wäre ein solches Beschränken des Untersuchungsfeldes bei den mittleren Stadien der Teilung weniger geeignet. Die Chromosomen, die sich vorher in dem geschlossenen Kern in einer geschützten Lage befanden, kommen nach Auflösung der Kernmembran in eine ganz andere Umgebung und sind jetzt dem Einfluß der Spindelsubstanz und des Plasmas unge-

hindert ausgesetzt. Dies muß sich natürlich auch in ihrem morphologischen Verhalten abspiegeln. Es kommen neue und zwar extranukleare Faktoren hinzu, die für die Manipulationen und Gestaltveränderungen der Chromosomen maßgebend sind und die berücksichtigt werden müssen. Während vor der Membranauflösung alle Eigenschaften der Chromosomen in den intranuklearen Bedingungen gesucht werden müssen, werden die Bedingungen in den Meta- und Anaphasen von der Spindelsubstanz und dem Protoplasma hergestellt.

Die Beziehungen zwischen den plasmatischen Erscheinungen und den Chromosomen machen sich z. T. auch morphologisch kenntlich. Aber zumeist kann nur aus den stattfindenden Umlagerungen und Ortsveränderungen der Chromosomen auf das Vorhandensein von solchen Beziehungen geschlossen werden. Und hier stoßen wir auf eine theoretisch wichtige Frage.

Die morphologische Analyse läßt nur insofern auf stoffliche und energetische Beziehungen zwischen den verschiedenen Teilen der Zelle schließen, als durch diese Beziehungen morphologisch zu verfolgende Erscheinungen hervorgerufen werden. Ein Nichteintreten oder ein Nichtvorhandensein solcher Erscheinungen kann aber nicht als Beweis gegen das Vorhandensein stofflicher oder energetischer Beziehungen angeführt werden. Andererseits können morphologische Beziehungen vorhanden sein, ohne daß sie von besonderen energetischen und stofflichen Beziehungen begleitet werden. Es ist wichtig, hierüber im Klaren zu sein, denn manche Angaben in der Literatur sind eben aus unklaren Vorstellungen über die Spannweite der morphologischen Analyse hervorgegangen.

Mit der Beschränkung der morphologischen Analyse, wenn es auf ein kausales Aufhellen der Lebenserscheinungen ankommt, hängt es auch zusammen, daß die morphologisch verfolgbaren Erscheinungen von sehr verschiedener Bedeutung sein können, obwohl man es ihnen nicht ohne weiteres ansehen kann. Ein Vorgang, der mit nur unscheinbaren morphologischen Umlagerungen und Strukturveränderungen verknüpft ist, kann für das Zellenleben und für die Zellmechanik sehr bedeutungsvoll sein, während andere Vorgänge, deren morphologische Folgeerscheinungen auffallend sind, in erwähnter Hinsicht weniger bedeutungsvoll sein können. Wir heben dieses hervor, weil man in unserem Gebiet auch diesen Satz vielfach nicht gebührend berücksichtigt hat. Ein lehrreiches Beispiel bildet die dizentrische Anordnung im Plasma, die für die Zellteilung so außerordentlich bedeutungsvoll ist, obwohl sie manchmal morphologisch wenig hervortritt, und die häufig sehr imponierenden Strahlungserscheinungen im Plasma, die nur ein Nebenphänomen bei der Teilung vorstellen. Denn man hat hier fast durchgehends den Strahlungen, bezw. Fasern eine große

mechanische Bedeutung zugeschrieben, während die dizentrische Anordnung nur beiläufig erwähnt und zumeist übersehen wurde.

Wir wollen uns nicht in das in theoretisch- methodischer Hinsicht so lehrreiche Gebiet der zytologischen Theorien und Hypothesen weiter vertiefen, denn dies würde uns zu weit führen. Es ist jedoch notwendig, in der Einleitung zu einer zytologischen Arbeit auf die allgemeine Tragweite der Analysenergebnisse hinzuweisen. Ich will daher hier nur noch die Beschränktheit der praktischen Methodik im Vorübergehen erwähnen. In anderen Arbeiten wurde dieses Feld eingehender rekognosziert. Es ist jedoch notwendig, noch auf einige allgemeine Punkte aufmerksam zu machen.

Die kausale Bedeutung der morphologischen Analyse ist beschränkt, das haben wir betont, und die zytologische Methodik hat — wie erwähnt — ihre Mängel, sodaß in unserem Gebiet eine doppelte Vorsicht geboten ist. Aber man soll nicht zu weit in der Skepsis gehen. Kritisch und vergleichend betrieben, kann die zytomorphologische Analyse sehr bedeutungsvolle Ergebnisse liefern. Und hier sind zwei Punkte hervorzuheben.

Wenn besonderer Nachdruck auf ein vergleichendes Verfahren gelegt wird, kann die morphologische Analyse gewisse Aufschlüsse über die allgemein zelluläre Bedeutung der beobachteten Erscheinungen geben. Ein Beispiel soll dieses erläutern. Durch die unzähligen Untersuchungen über die Bildung, die Zahl, die Gestalt, die Lageverhältnisse der Chromosomen sind wir so weit gekommen, daß wir mit ziemlich großer Sicherheit sagen können: Diese Bildungen (d. h. der Stoffinhalt) sind für die zellulären Erscheinungen von hoher Bedeutung. Ich will mich nicht in die Gedankengänge und die zahlreichen Tatsachen vertiefen, die zu einem solchen Schlußsatz führen. Die Sachlage ist im Grunde diese: Es handelt sich um eine Erscheinung, die periodisch auftritt und sehr kompliziert ist; die Zelle ist sehr zweckmäßig eingerichtet, sodaß komplizierte Erscheinungen selten ohne hinreichend tiefen Grund ablaufen; folglich ist es sehr wahrscheinlich, daß die Erscheinung etwas für die Zelle sehr bedeutungsvolles vorstellt. Alles kommt hier, wie man sieht, auf die Komplikation an, denn Periodizität besitzt fast jede Zellerscheinung. Die Hauptfrage bei zytologischen Verallgemeinerungen ist also die Abschätzung der Komplikation. Man könnte diesen allgemeinen Satz aufstellen: Eine morphologisch zu ermittelnde Komplikation ist bedeutungsvoll in dem Grad, wie sie ein Resultat mehrerer zusammenstoßender Einzelfaktoren ist und als Endglied einer langen Entwicklungskette steht. Ich will diesen Satz hier nicht weiter entwickeln, nur ein paar Beispiele zu seiner Illustration geben.

Die Chromosomen sind eben das Endresultat einer langen Ent-

wicklungskette, denn sie werden ja in der Prophase in besonderer Weise angelegt und laufen verschiedene Stadien durch, in denen sie eine gewisse morphologische Selbständigkeit bewahren. Viele Faktoren müssen ihre Bildung bedingen, denn sie besitzen ja verschiedene Eigenschaften, sind gespalten oder dualistisch gebaut, treten in häufig konstanter Zahl auf usw. Daher schreiben wir den Chromosomen eine hohe Bedeutung für die zelluläre Organisation zu, oder besser ausgedrückt: Wir müssen annehmen, daß es für die Zelle sehr bedeutungsvoll ist, daß eben Chromosomen mit den erwähnten Eigenschaften ausgebildet werden. Ein solches Ergebnis ist wohl — scheint es mir — recht wertvoll, obwohl es ein weiter Schritt von hier bis zu den „Vererbungstheorien" ist.

Als zweites Beispiel seien die bei der Zellteilung häufig beobachteten Strahlungen und Spindelfäden erwähnt. Abgesehen davon, daß solche Bildungen schon durch die Fixierung entstehen können, was aber niemals an den Chromosomen beobachtet wurde und was ein gutes Argument für die zweifelhafte zelluläre Bedeutung der Fasern und Strahlen ist, so haben diese Dinge in den Fällen, wo man ihre Enstehung einigermaßen einwandfrei hat beobachten können, keine langen und verwickelten Vorstadien aufzuweisen. Sie sind Strahlen und Fäden vom ersten Anfang an, und verbleiben so, bis sie verschwinden. Daher betrachten wir sie auch als wenig bedeutungsvoll. Sie reihen sich den rein physikalischen Erscheinungen an, die unmittelbar aus einer gegebenen Konstellation der Bedingungen hervorspringen, z. B. der Kristallisation.

Der durch dieses vergleichende Verfahren gegebenen Möglichkeiten der morphologischen Analyse, Aufschlüsse über die Bedeutung registrierter Erscheinungen zu gewähren, hat man sich zu bedienen, wenn man theoretische Betrachtungen über die Mechanik der Teilungsvorgänge anstellen will. Unser zweiter Punkt, mit dessen Besprechung wir die Einleitung abschliessen wollen, kann in folgender Weise formuliert werden. Ermöglichen es die Ergebnisse vergleichend morphologischer Untersuchungen über die Teilungsvorgänge bis zu einem gewissen Grad Aufschlüsse über die Mechanik derselben zu gewinnen, und ist es überhaupt zulässig, aus vorwiegend morphologischen Tatsachen eine Theorie der Zellteilungsmechanik zu konstruieren? Die Antwort auf diese Frage ist für uns von besonderer Bedeutung, denn wie der Leser sieht, behandelt eben unser letztes Kapitel und auch zum Teil Kap. 5 solche theoretische Fragen. Das Motiv für die Aufnahme von theoretischen Erörterungen über die Kernteilungsmechanik war das, daß die Erscheinungen im Plasma, die für die metaphasischen Vorgänge und für die Teilung des Zelleibes so bedeutungsvoll sind, sich überhaupt nicht zusammenhängend behandeln lassen, ohne daß

man auf die zugrunde liegenden Ursachen einzugehen versucht. Die aufgestellte Frage ist aber sehr kompliziert; wir werden es versuchen, das wichtigste kurz hervorzuheben.

Rein morphologische Tatsachen können niemals Aufschlüsse über die wahre Kausalität eines Vorgangs geben — das haben wir oben erwähnt. Dagegen konnte eine vergleichend morphologische Analyse bis zu einem gewissen Grad die allgemeine zelluläre Bedeutung der Erscheinungen erkennen. Eine vergleichend morphologische Analyse besitzt aber schon in sich ein physiologisches Moment. Ferner liegen auf diesem Gebiet auch experimentelle Untersuchungen vor. Endlich hat man zu bedenken, daß die Teilungsvorgänge große Umlagerungen in der ganzen Zelle mitbringen, sodaß dabei bedeutende Stoffwechselveränderungen stattfinden müssen; daß bei denselben eben spezifisch zelluläre oder organische Bewegungsmomente in Betracht kommen; daß die Teilungsvorgänge bei den verschiedenartigsten Organismen in identischer Weise vor sich gehen; daß daher etwas essentiell Organisatorisches — wenn ich mich so ausdrücken darf — d. h. etwas für alle Zellen Gemeinsames, etwas für das Lebenssubstrat allgemein Kennzeichnendes bei der Zellteilung zum Ausdruck kommt. Kurz gesagt: Man kann hier die ganze allgemeine Zellularphysiologie heranziehen, denn es ist wahrscheinlich, weil die Teilungsvorgänge eben allgemeine zelluläre Erscheinungen sind, daß bei ihnen Bewegungsmomente und Energiearten benutzt werden, die auch bei anderen allgemeinen zellulären Vorgängen mitspielen. Wenn man daher so verfährt, daß man die Art und Weise, in welcher die Zellteilungsvorgänge im ganzen Organismenreich vor sich gehen, unter diesem allgemeinen physiologischen Gesichtspunkt betrachtet, nicht auf einfachen physikalischen Analogien baut, sondern das in organischem Sinne Charakteristische der Erscheinungen herauszufinden versucht — dann kommt man zu einer gewissen Vorstellung über die Mechanik dieser Vorgänge, die zwar keine detaillierte Erklärung ist, jedoch die Hauptzüge einigermaßen klar hervortreten läßt. Obwohl also die Grundlage einer solchen Theorie der Teilungsvorgänge vorwiegend aus vergleichend morphologischen Tatsachen gebildet wird, so handelt es sich hier nicht um das einfache und vielbeliebte Verfahren „Physiologie aus morphologischen Tatsachen zu machen“.

Bei der jetzigen Lage der zytologischen Forschung kann es nach meiner Meinung von Bedeutung sein, zu untersuchen, wie weit sich die Zellteilungsvorgänge überhaupt kausal denkbar machen lassen. Denn wir befinden uns sicher am Beginn einer neuen Entwickelungsepoche: Die organischen Teilungsvorgänge sind bis jetzt vorwiegend morphologisch untersucht worden; jetzt gilt es, diese morphologischen Kenntnisse durch experimentelle, physiologische Untersuchungen frucht-

bar zu machen. Ich glaube, daß ein, obwohl unvollständiger Versuch, die morphologischen Tatsachen unter allgemeinen physiologischen Gesichtspunkten zu betrachten, dazu beitragen kann, das Problem in eine für die künftige Forschung geeignetere Lage zu bringen. Und darin findet wohl der Versuch seine Berechtigung.

Ich möchte folglich den Leser bitten, die am Schluß dieser Abhandlung einsetzenden theoretischen Ausführungen im Lichte der hier angedeuteten Gesichtspunkte zu betrachten. In einer folgenden Arbeit hoffe ich, meine Auffassung der Teilungsmechanik ausfürlicher darlegen zu können. Die Natur des hier behandelten morphologischen Gegenstands hat mich aber genötigt, bei Besprechung desselben in das physiologische Gebiet überzugreifen. Denn besonders die Vorgänge im Plasma und die Eigenschaften der Spindelsubstanz und des Phragmoplasten lassen klar erkennen, wie innig in der Zelle Morphe und Funktion zusammenhängen. Was den Kern anbetrifft, so sind ja die in ihm stattfindenden Vorgänge schon in morphologischer Hinsicht so interessant und verwickelt, daß das Bedürfnis nach kausaler Aufhellung sich hier nicht so lebhaft bemerkbar macht. Die Entwickelungsgeschichte der Chromosomen bildet in der Tat einen Höhepunkt der spezifisch organisatorischen Fähigkeiten der Zelle. In keiner anderen zellulären Erscheinung kommen so viele bedeutungsvolle morphologische Merkmale zum Vorschein. Die Chromosomen und ihre Bildung können daher bis zu einem gewissen Grade mit den Merkmalen des Gesamtorganismus und ihrer Entfaltung in Parallele gesetzt werden. Die Chromosomen sind, m. a. W., individualisiert, die Beziehungen zwischen Morphe und inneren und äußeren funktionellen Bedingungen sind in dem geheimen Betrieb der Zelle tief eingehüllt. Bei morphologisch weniger anspruchsvollen Bildungen treten aber diese Beziehungen klarer zutage. Und eben daher dürfte das Studium der Veränderungen im Plasma bei der Karyokinese ein Verbindungsglied und ein Übergangsglied zwischen dem morphologischen und dem physiologischen Studium der organischen Teilungsvorgänge bilden.

Methodik.

Die Objekte vorliegender Arbeit sind namentlich *Allium Cepa* und *Vicia Faba*, und zwar ihre Wurzelspitzen. Dieselben Objekte nebst *Cucurbita Pepo*, über die wir auch hier ein paar Figuren mitteilen, wurden für die gleichzeitigen Arbeiten 1912 b und c benutzt. In der Arbeit 1912 b habe ich das Aussehen der Kerne und der Teilungsstadien im lebenden Zustande geschildert, und in der Arbeit 1912 c wurden die Objekte in fixiertem und gefärbtem Zustande einer genaueren Untersuchung unterworfen, wobei das Untersuchungsfeld auf das Verhalten des Karyotins in Ruhe, Interphase und bei der

Bildung und Auflösung der Chromosomen begrenzt wurde. In diesen Arbeiten war ich bemüht, die wichtigsten in der Literatur vorliegenden Angaben anzuziehen und in Zusammenhang mit den eigenen Ergebnissen zu besprechen. Da auch in vorliegender Arbeit in derselben Weise verfahren wurde, so bildet sie zusammen mit den beiden übrigen eine recht vollständige und ausführliche Darstellung unserer derzeitigen Kenntnisse der typischen Teilungsvorgänge in höheren Organismen — obwohl ich selbstverständlich die zoologische Literatur nicht so eingehend wie die botanische besprochen habe.

Eine kritische Verwertung der Literatur ist in unserem Gebiet in der Tat ein recht schwieriges Unternehmen. Denn man hat hier nicht nur mit unzureichend begründeten theoretischen Vorstellungen zu kämpfen, sondern auch die Theorie der zytologischen Methodik ist bisher sehr vernachlässigt worden. Schon früher (1910 b) hatte ich Gelegenheit, einige Mängel unserer Fixierungsmittel aufzuweisen, und zwar in bezug auf die Konservierung des Protoplasmas. Im Laufe der für vorliegende Arbeit und die gleichzeitigen Arbeiten 1912 b und c angestellten vergleichenden Untersuchungen hatte ich auch reichlich Gelegenheit, Beobachtungen über die Wirkungsweise der gebräuchlichen Fixierungsmittel zu machen, und diese Beobachtungen bilden die Grundlage der theoretischen Arbeit 1912 a. In dieser Arbeit wurde auch die Theorie der Färbung behandelt, und ich habe zuletzt gezeigt, daß die Sachlage in bezug auf unsere gesamten Kenntnisse der Kernstrukturen derart ist, daß man ihre bisherige Nomenklatur verändern muß. Namentlich habe ich die Ungeeignetheit der gebräuchlichen Benennungen „Chromatin“ und „Linin“ betont, und es wurde empfohlen, den von mir schon 1910 vorgeschlagenen Ausdruck Karyotin für diejenige Substanz des Kerns zu benutzen, die in der Prophase das Material für die Chromosomen liefert.

Das Karyotin ist folglich die essentielle Substanz des Kerns, an deren morphologische Verwandlungen das Hauptinteresse der Zytomorphologie bisher geknüpft war.

Was die Veränderungen im Protoplasma, die die Morphogenese des Karyotins begleiten und sich mit derselben in der Metaphase verknüpfen, anbetrifft, so sind sie meistens bedeutend schwieriger zu fixieren wie die Kernstrukturen. Daher ist hier eine besonders scharfe Kritik hinsichtlich der Fixierung und Färbung auszuüben. Über die Nomenklatur der protoplasmatischen Teilungserscheinungen ist nichts besonderes zu sagen. Wir benutzen im folgenden die gebräuchlichen Benennungen „Polkappen“ für die Anfangsstadien der Kernspindel bei den Pflanzen und die von Leo Errera herrührende Bezeichnung „Phragmoplast“ für die bei den nämlichen Organismen häufig beobachtete tonnenförmige Bildung zwischen den Tochterkernen,

in welcher die neue Scheidewand angelegt wird. Außerdem werde ich im folgenden die generelle Benennung „Spindelsubstanz“ benutzen und bezeichne damit dasjenige helle Medium, das die Chromosomen in der Metaphase umgibt und häufig Spindelform annimmt. Es ist nämlich notwendig, hier einen neutralen Namen zu besitzen, weil das erwähnte Medium nicht selten gar nicht die Form einer regulären Spindel hat. Die in der Spindelsubstanz, bezw. in den Polkappen oder dem Phragmoplasten häufig sichtbaren Fäden nennen wir, wie üblich, häufig Spindelfasern, obwohl wir damit selbstverständlich keine theoretisch-mechanischen Vorstellungen verknüpfen.

Im allgemeinen gilt bei unserer kritischen Verwertung der Literatur, daß man nicht allzu feinfühlig verfahren soll. Denn tatsächlich sind nicht wenige Angaben ohne jede Kritik hinsichtlich der Fixierung und Färbung entstanden. Wo solche Angaben in Widerspruch mit unseren eigenen Befunden stehen, müssen sie daher geopfert werden. Sonst habe ich mich bemüht, so viel verschiedenartige Angaben wie möglich zu sammeln, damit man sehen kann, daß viele morphologische Fragen noch der Lösung harren, und daß ähnliche Erscheinungen, z. B. die Spindelfasern, in sehr verschiedener Weise zustande gekommen sein können.

Was endlich die praktische Methodik unserer Untersuchungen anbetrifft, so ist nur zu erwähnen, daß verschiedene Fixierungs- und Färbungsmethoden benutzt wurden. Zum Fixieren wurden folgende Flüssigkeiten in der gebräuchlichen Zusammensetzung (vgl. 1912 c) verwandt: Flemming (stärker und schwächer), Merkel, Hermann, Zenker, Tellyesniczky, Kaiser, Carnoy. Zum Färben wurde Heidenhains Eisenalaunhämatoxylinmethode ohne oder mit Nachfärbung in Congorot, Safranin-Gentianaviolett mit oder ohne Orange G, Fuchsin, Fuchsin-Toluidinblau benutzt. Über die Wirkungsweise dieser Fixierungs- und Färbungsflüssigkeiten ist im Text sowie in den Arbeiten 1912 a und c ausführlich berichtet worden.

A. Spezieller Teil. Eigene Beobachtungen.

Kapitel 1. Beobachtungen an Allium Cepa.

§ 1. Die späteren Stadien der Spirementwicklung.

Die Längsspaltung. Diese, die, wie anderorts geschildert wird (1912 c), schon sehr früh angelegt ist, kann bei nicht völlig geeigneter Fixierung und Färbung zum scheinbaren Verschwinden oder Undeutlichwerden gebracht werden (vgl. Fig. 1, 3, 4, 8, Taf. XI). Diese künstliche Verdeckung der Spalte in den jungen Chromosomen, die

sogar noch in der Metaphase hervorgerufen werden kann (Fig. 12, Taf. XI), hängt entweder mit einer künstlichen Verklebung der Spalthälften oder mit einem Festhalten der Farbe in der Spalte zusammen (vgl. 1912 a). Bei guter Fixierung und Färbung (Flemmingfixierung und Eisenhämatoxylin), bezw. Differenzierung der Präparate kann man aber immer die Kontinuität der prophasischen Längsspalte feststellen. Wir heben diese Sachen besonders hervor, weil neuerdings seitens Kr. Bonnevies (1908—1911) der Versuch gemacht wurde, diese Kontinuität zu leugnen. Fräulein Bonnevie hat auch *Allium* untersucht: ihre Ergebnisse beruhen aber nur auf mangelnder Kritik hinsichtlich der Fixierung und Färbung.

Was die letzte Ursache dafür ist, daß die Längsspalte, die in früheren Stadien sehr deutlich sein kann, in der späteren Prophase, wo jedoch das Karyotin nicht so fein verteilt ist wie früher, gegen Fixierung und Färbung empfindlich ist, kann nicht genau gesagt werden. Besonders überraschend ist das Verhalten nicht; ich stelle mir vor, daß es mit einem Engerwerden der Spalte zusammenhängen könnte; es ließe sich wohl auch denken, daß die Spalthälften durch eine andere Substanz zusammengehalten würden.

Die Kontinuität der Längsspaltung läßt sich in den Fig. 2, 6, 7, Taf. XI verfolgen.

Die Diskontinuität des Spirems. In dem späteren Spiremstadium, mit dem wir unsere Beschreibung begonnen haben, sind getrennte Chromosomen vorhanden. Dies sehen wir besonders schön in der Fig. 2, Taf. XI. Diese Figur stellt einen ganzen Kern dar, und man kann in ihm unschwer 16 isolierte, gespaltete Chromosomenbänder zählen. Ein etwas späteres Stadium ist in Fig. 5, Taf. XI, dargestellt. Auch hier findet man 16 Schlingen.

In etwas früheren Stadien, wie in Fig. 1, Taf. XI, kommt es häufig vor, daß die auch in lebendem Zustande unregelmäßigen Chromosomenschlingen verklebt sind, was in vielen Fällen mit der Fixierung zusammenhängen dürfte, aber auch darauf beruht, daß die Chromosomenbildung in einem ursprünglich gleichförmigen zusammenhängenden Gerüst vor sich geht (vgl. 1912 c).[1] Eine genaue Analyse der früheren Stadien ergibt jedenfalls, daß ein kontinuierliches Spirem, wie dies unrichtigerweise von Schaffner (1898), Němec (1899) und Merriman (1904) angegeben wurde, niemals vorkommt. Wir schließen uns hier an Grégoire (1906) an. Stadien, wie das in Fig. 2, haben uns außerdem bestimmt gezeigt, daß die Chromosomen hier als ebenso selbständige Individuen wie in der Metaphase vorhanden sind.

Die Orientierung der Chromosomenbänder. In der soeben besprochenen Fig. 2, Taf. XI, wo alle Chromosomen mit der Camera eingezeichnet wurden, findet man keine besondere Orientierung der

Chromosomen. Sie sind in verschiedener Weise gebogen und verschlungen und sind ganz regellos gerichtet. Das einzige, was man an ihrer gegenseitigen Lage beobachten kann, ist die harmonische Verteilung in dem Kernraum. Diese harmonische Verteilung der Chromosomen im Kernraum ist immer vorhanden.

In einer Anzahl Fällen findet man aber noch eine andere, speziellere Orientierung der Chromosomenbänder, nämlich die bekannte, zuerst von Rabl (1885) entdeckte Anordnung derselben. Eine solche Orientierung der Chromosomenbänder haben alle diejenigen Forscher beobachtet, die *Allium* untersucht haben. Allerdings handelt es sich hier nicht, wie Schaffner (1898) angibt, um eine Anordnung des Spirems „into sixteen definite loops". Auch Miss Merrimans Behauptung, daß „the coils of the spirem break transversely at the places where they were bent", ist unrichtig. Es kann sogar nicht entschieden werden, ob die weit verbreitete Behauptung, die Kr. Bonnevie vertritt, stichhaltig ist. Fräulein Bonnevie gibt an, daß in der schnell wachsenden Zone der Wurzelspitze die Chromosomen in derselben Ordnung zum Vorschein kommen, „die auch für die alten, aus der vorhergehenden Mitose stammenden charakteristisch war, d. h., sie sind V-förmig gebogen, mit ihren freien Enden der Schwesterzelle zugewandt, und zeigen unter sich einen annähernd parallelen Verlauf". (Bonnevie, 1908, S. 480; vgl. ihre Fig. 40—51, 57—65). In den Teilen der Wurzel, die sich nicht so schnell teilen, sollen die Prophasenchromosomen nach Bonnevie eine „entsprechend unregelmäßige Anordnung" aufweisen. Diese Beobachtungen Bonnevies kann ich nicht bestätigen. Zwar kommt die erwähnte Orientierung häufig zum Vorschein, jedoch besteht kein Gegensatz zwischen Zellen, die sich schnell und die sich langsam teilen. In der Zone der regsten Teilungsgeschwindigkeit ist nicht in allen Kernen die Rablsche Orientierung vorhanden (vgl. Fig. 2, Taf. XI), während ich andererseits sehr schöne Fälle der Orientierung in den etwas älteren Wurzelteilen beobachtet habe. Němec (1900) gibt auch an, daß man während der Prophasis alle mögliche Übergänge von einer typischen Polarität bis zu einer ganz unregelmäßigen Anordnung der „Chromatinschleifen" sieht.

Was die Ursachen der erwähnten Orientierung bezw. Nichtorientierung der Chromosomenschlingen in der Prophase anbetrifft, so läßt sich nichts Sicheres hierüber aussagen. Im allgemeinen scheint man die Sachen so aufzufassen, wie es aus dem zitierten Ausspruch Bonnevies hervorgeht, und setzt den Fall mit der Theorie der Chromosomenindividualität zusammen. In dem allgemeinen Teil werden wir uns mit dieser Behauptung näher beschäftigen.

Hier sei nur noch erwähnt, daß es in einem Gewebeverband recht schwierig zu sagen ist, in welcher Richtung die nächst vorhergehende

Teilung stattgefunden hat. Andererseits kann es sicher entschieden werden, wie auch Němec (1900) bemerkt, daß die Rablsche Orientierung in keiner Beziehung zu der künftigen Teilungsachse steht. Dagegen scheint es mir nicht ganz ausgeschlossen zu sein, daß die Orientierung mit der relativen Dicke und Länge der Bänder, den Raumverhältnissen überhaupt zusammenhängen könnte. Allerdings kann man die Orientierung sowohl an dicken und kurzen wie langen und dünnen Spiremen beobachten, und besonders geeignet sind hierfür dicke Querschnitte durch die Wurzeln. Für die Annahme, daß die Orientierung in einer Beziehung zu der telophasischen Anordnung stände, spricht die allgemeine Beobachtung, daß in den meisten Fällen die Bänder, wenn sie überhaupt orientiert sind, in der Längsrichtung der Wurzel verlaufen.

Zahl der Spirembänder. In dem fertigen Spirem liegen die Chromosomenschlingen frei (§ 2, Fig. 2, Taf. XI). An dicken Schnitten, wo die Kerne ungeschnitten sind, kann man sie unter Umständen zählen. Ich verwendete 14 μ dicke Schnitte. Nicht in jeder guten Flüssigkeit fixiertes Material eignet sich zur Herstellung so dicker Schnitte, auch ist es schwierig, eine gute Färbung derselben zu erzielen. Fig. 2 stellt einen ganzen Kern aus einem hämatoxylingefärbten Merkelpräparat (Querschnitt durch die Wurzelspitze) vor. Alle Chromosomenschlingen wurden mit größter Sorgfalt in die Zeichnung eingetragen. Zählt man sie, so bekommt man die Zahl 16. Sie liegen völlig frei, nur ein Chromosom ist wohl etwas alteriert worden (Fadenausziehung). Die Chromosomenzahl bei *Allium Cepa* ist konstant 16.

§ 2. Polkappen. Auflösung der Kernmembram. Spindelbildung. Der Chromosomenknäuel.

Die Polkappen. In dem Spiremstadium werden die Polkappen angelegt. Sie sind völlig hyalin. Ob Polkappen immer vorkommen, erscheint jedoch fraglich. Jedenfalls weisen sie eine verschiedene Ausbildung auf. Artefakte können sie kaum sein, denn schon im Leben findet man übereinstimmende Bildungen (Lundegårdh 1912 b, S. 249, Fig. 7, Taf. II). Es ist aber unsicher, ob das Vorhandensein von Polkappen ein notwendiges Vorstadium zur Auflösung der Kernmembran ausmacht. Letzteren Vorgang habe ich in Fig. 4, Taf. XI, abgebildet. Die Membran verschwindet zuerst an den Polseiten des Kerns. Zugleich sieht man Fasern, die zwischen den äußersten Spiremfäden und dem Polplasma verlaufen, und welche nach außen konvergieren. In anderen Fällen findet man keine solchen Fäden. Der Spiremknäuel liegt in diesen Fällen am Ende frei im Plasma ohne irgend welche verbindenden Fasern. Der Auflösung der Membran scheint ein Undeutlichwerden derselben vorauszugehen. In dem Plasma

treten zu dieser Zeit oder vorher nicht immer besondere Polansammlungen auf. In den Fig. 3, 8, Taf. XI, sieht man zwar solche Ansammlungen, es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß solche auch bei der Fixierung entstehen können.

Die weiteren Veränderungen im Plasma und Kern am Schluß der Prophase. Sind die Polkappen wohl ausgebildet gewesen, bekommt man mutmaßlich nach Auflösung der Membran Bilder wie Fig. 3 und 8, wo der Spiremknäuel frei in einer eiförmigen Aushöhlung in dem Plasma liegt. Diese Aushöhlung kann anfangs teilweise von einer Membram begrenzt sein, wie wir es in den genannten Figuren, besonders in Fig 8, sehen.

Während der Polkappenbildung scheint das Volumen des Kerns abzunehmen, sodaß der Spiremknäuel dichter wird (Fig. 3). Wahrscheinlich stellt wohl aber diese Verdichtung keinen für die Teilungsmechanik unerläßlichen Vorgang vor. Das Aussehen des Knäuels wechselt übrigens mit der Gestalt und dem Charakter der Zelle. In den großen Epidermiszellen sieht man große, ziemlich dünnfädige Knäuel, die später kaum weiter zusammengezogen werden. In den langen und schmalen Pleromzellen findet man häufig kleinere und dickfädige Knäuel (Fig. 4). Übrigens läßt sich keine genaue und zugleich allgemeine Beschreibung dieser Stadien geben. Die Spiremen können je nach dem Charakter der Zelle dünner oder aber dicker sein; bei *Vicia Faba* haben wir diese Verhältnisse etwas näher verfolgt (Kap. 2).

Nach der Auflösung der Kernmembran liegt, wie oben gesagt, der Spiremknäuel in einer hellen Aushöhlung im Plasma. Die Größe dieser Aushöhlung wechselt, was wohl mit der verschiedenen Ausbildung der Polkappen zusammenhängt. In isodiametrischen Zellen ist sie fast sphärisch (Fig. 6, Taf. XI), in länglichen Zellen mehr oder weniger eiförmig (Fig. 3, 7, 8, Taf. XI). Meistens ist die Aushöhlung, obwohl sie mehr oder weniger membranlos ist, sehr regelmäßig oval gestaltet; in gewissen Fällen habe ich unregelmäßigere Gestalten derselben gesehen (Fig. 8). Ich kann nicht sagen, ob es sich hierbei um eine artifizielle Formveränderung handelt, jedenfalls arbeiten wohl die maßgebenden Kräfte auf eine regelmäßige Gestalt der Spindelhöhlung hin. Außerordentlich schön ist die Ausbildung der hellen, membranlosen Aushöhlung in Fig. 7 zu sehen. Wahrscheinlich ist wohl die Substanz, die die Spindelhöhlung erfüllt, ziemlich zähflüssig und stabil. Es wäre sonst schwer zu verstehen, wie man in den fixierten Präparaten, die jedoch immer Artefakte enthalten, so schön erhaltene Spindelräume bekommen könnte. Das übrige Plasma, das doch nicht eben leichtflüssig ist, wird nämlich bei der Fixierung sehr alteriert.

Während in gewissen Fällen und in früheren Stadien die Spindelräume eine membranöse Begrenzung gegen das Plasma aufweisen, entbehren sie in späteren Stadien immer einer Membran. Dessen ungeachtet kann man in den Fällen, wo der Spindelraum gut ausgebildet ist und solange der Knäuelzustand erhalten wird, eine ziemlich gute äußere Begrenzung desselben beobachten. Die Strukturen des Plasmas und des Kerns in diesen Stadien wurden sehr genau in den Fig. 6 und 7, Taf. XI wiedergegeben.

Das Zytoplasma wird ziemlich unregelmäßig fixiert, man sieht durch Fäden verbundene schwammartige Massen und darin zerstreute kleine Körnchen, die die Farbe behalten haben. In Fig. 8, die ebenfalls sehr genau gezeichnet wurde, ist das Plasma an den Polen dicht angehäuft. Hier liegen auch eigentümliche Einschlüsse, die wie Zwergkerne aussehen, deren Natur mir aber unbekannt ist. Ihre Lage an den Polen spricht für eine Bewegung des Plasmas gegen diese in der Prophase (Kap. 5). Die Spindelhöhlung ist in Fig. 8 überall von einer Membran umgeben, nur rechts am Äquator sieht man keine membranöse Begrenzung derselben. Durch den hellen Kernraum verlaufen in verschiedenen Richtungen sehr dünne und schwach gefärbte Fäden, die meisten von ihnen verlaufen jedoch in der Längsrichtung der Figur. Diese Fäden verbinden die äußersten Spiremschlingen, die hier ungespalten erscheinen (das Präparat war in Safranin-Gentianaviolett gefärbt), mit der Membran oder dem Zytoplasma. In Fig. 8 sind diese Fäden spärlich vorhanden, in Fig. 3 sind sie etwas zahlreicher. Auch in letzterer Figur ist die Begrenzung des Spindelraumes nur an den Polen deutlich. Die genannten Fäden sind überall von derselben Art, glatt und hyalin; schon in Fig. 4 sehen wir sie an den Polen, einige sind hier in Bündeln gesammelt.

Wenn die Spindelhöhlung keine membranöse Begrenzung besitzt (Fig. 6, 7, Taf. XI), setzen die feinen Fäden an Waben oder Körnchen in dem umgebenden Plasma an. In Fig. 6 bildet das Plasma eine wellige Grenzlinie an dem Spindelraum, in Fig. 7 (unten) ist die Grenzlinie gezackt oder zerschlitzt. Wahrscheinlich stellt Fig. 6 ein etwas späteres Stadium vor, in welchem der Knäuel kontrahiert worden ist und die Begrenzung zwischen Spindelraum und Plasma sich eben zu verwischen beginnt. In Fig. 7 sieht man deutlich, daß die feinen, hyalinen Fäden an Körnchen oder kleine Protuberanzen des umgebenden Plasmas ansetzen. Die Körnchen sind ebenfalls hier, wie in Fig. 3, 7, 8, an den Polen stärker angesammelt.

Es ist nicht leicht zu entscheiden, ob die feinen Fäden als präformiert oder als Artefakte zu betrachten sind. Für eine artifizielle Entstehung derselben spricht der Umstand, daß sie an Körnern oder kleinen Vorsprüngen befestigt sind. Man sieht auch, daß sie kleinen

Höckern an den Chromosomen entspringen (bes. Fig. 3, 6, 7). Im Leben findet man jedenfalls keine solchen Fäden. Mit der Herkunft der Fäden sei wie ihm wolle, eine prinzipielle Bedeutung kommt ihnen sicher nicht zu. Für ihre Präformation kann der Umstand sprechen, daß sie zumeist in der Längsrichtung der Kernfigur verlaufen.

Die eben besprochenen Stadien verlaufen wahrscheinlich ziemlich schnell.

Der Spiremknäuel beginnt sich alsdann aufzulockern (Fig. 3, 7, 8), und die Karyotinschlingen (die Chromosomen) orientieren sich in der Längsrichtung der künftigen Teilungsfigur. In den Fällen, wo keine Kontraktion des Knäuels stattfindet, beginnt diese Orientierung schon früher. Der genannte Vorgang muß einen, je nach der Lage der Chromosomenschlingen in dem Spirem und der Totalgestalt des Kerns (ob rund oder oval) usw., in den einzelnen Fällen variierenden Verlauf haben. Die vorher beschriebene eigentümliche Orientierung der Spiremfäden (wenn sie schleifenförmig gebogen sind oder parallel verlaufen), der man aber nicht immer begegnet, übt wohl im allgemeinen keinen vorteilhaften Einfluß auf die spätere Manipulation der Chromosomen aus, denn diese Orientierung bringt selten die Chromosomen in eine mit der Teilungsachse parallele Lage. Allein in einzelnen Fällen können wohl die beiden Orientierungsachsen zusammenfallen, und sodann bedarf es offenbar — wenn das Stadium des dichten Knäuels (Fig. 3) übersprungen wird — keiner besonderen Umlagerungen, um die Chromosomen in die Lage zu bringen, die wir in Fig. 6 und 7 sehen. In den meisten Fällen bedarf es wohl zu diesem Zweck mehr oder weniger umständlicher Lageveränderungen der Schlingen. Man denke z. B. an solche Spiremstadien und Knäuel wie in Fig. 3 und an die Lage der Chromosomen in Fig. 4, Taf. XI.

Während der Umordnung der Chromosomen wird die Begrenzung zwischen Spindelraum und Plasma mehr und mehr verwischt (Fig. 9, Taf. XI), wobei jedoch immer ein heller Raum um den Chromosomenhaufen beibehalten wird.

Von Spindelfäden sieht man in diesen Stadien sehr wenig, besonders in Zellen, die nahe an der Peripherie der Wurzel liegen; dagegen wird wohl immer die polare Anhäufung des Plasmas beibehalten (Fig. 8).

Die vorzugsweise Plazierung der Chromosomen in der Längsrichtung der Figur, wie wir es in Fig. 6—8 sehen, kann wohl kaum als ein besonderes Stadium betrachtet werden. Sie macht nur einen häufig durchlaufenen Übergangszustand bei der Umordnung der Chromosomen vor der Bildung der Äquatorialplatte aus, die wohl unter Umständen, d. h. bei besonderer Vororientierung der Schlingen, durch andere ersetzt werden oder völlig wegfallen kann. Fig. 5 stellt eben

ein Vorstadium der Äquatorialplatte dar. Der Chromosomenhaufen nimmt immer bei dieser Umordnung seiner Elemente ein sehr verworrenes Aussehen an.

Während aller dieser Manipulationen werden die Chromosomen kürzer und dicker, und bei geeigneter Präparation kann immer das Bestehen ihres doppelten Aufbaues festgestellt werden.

§ 3. Bemerkungen über Fixierung und Färbung.

Die späteren Spiremstadien werden in der Flemmingschen Flüssigkeit sehr gut erhalten. Das Karyotin kommt ja jetzt in größeren Anhäufungen vor, auch ist es vielleicht zähflüssiger; der Umstand, der für die gute Fixierung die größte Rolle spielt, ist wohl aber das Fehlen von Anastomosen. Größere Umlagerungen bei der Fixierung der Stadien Fig. 3—9 können wir daher kaum behaupten, dagegen wird natürlich die feinere Struktur der Chromosomenschlingen, falls man von einer solchen reden soll, bei der Gerinnung mehr oder weniger verändert. Nach meinen Beobachtungen an lebendem Material sind die Spiremfäden nach dem Verschwinden der Anastomosen glatt, die rauhe Oberfläche derselben in Fig. 7 dürfte daher artifiziell erzeugt sein. Dagegen dürften die Hälften jedes Spiremfadens auch im Leben häufig eine umeinander gedrehte Lage einnehmen. Im einzelnen werden die Bänder wohl etwas aus ihrer natürlichen Lage verrückt, diese Verlagerungen sind aber sicher ziemlich unbedeutend, sonst würden nicht die Schlingen eine so harmonische Verteilung aufweisen (vgl. Fig. 2).

Man sieht der Polkappenbildung, der Membranauflösung und dem Kernraum entsprechende Bildungen und Erscheinungen auch im Leben. Das Verhalten der Nukleolen während der Membranauflösung muß ausschließlich an lebendem Material studiert werden (vgl. Lundegårdh 1912b). Auf ein Austreten der Nukleolen ins Plasma habe ich auf dem fixierten Material niemals direkt schließen können.

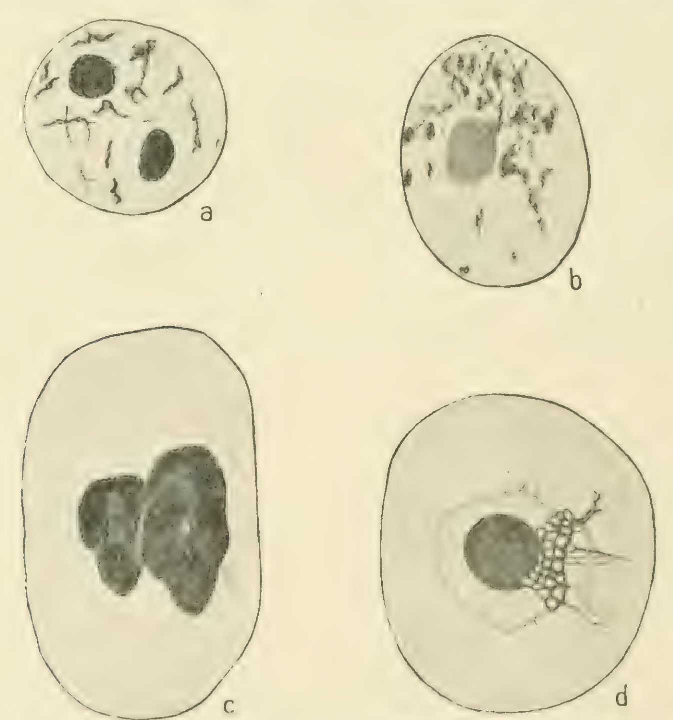
Auch die durch die Figuren 5—8 vertretenen Stadien dürften bei der Fixierung relativ sehr gut erhalten werden, obwohl sich vielleicht unbedeutende Verlagerungen abgespielt haben. Im Leben erscheinen die Schlingen oder Chromosomen in diesen Stadien durchaus frei und selbständig.

Betreffend die Längsspaltung sei erwähnt, daß dieselbe viel deutlicher und häufiger in Hämatoxylinpräparaten wie in SGO-Präparaten hervortritt, sofern nicht die letzteren sehr alt sind. Denn im Laufe der Zeit scheint eine außerordentlich scharfe Differenzierung stattzufinden, so daß alle Chromosomenschlingen in dem erwähnten Stadium (vgl. oben) deutlich mit Spalte versehen sind. Besonders solche dicke und anscheinend homogene Fäden wie in Fig. 3 und 4, Taf. XI, findet man niemals in diesen alten Präparaten. Merkel

ist in vielen Fällen eine sehr geeignete Flüssigkeit, wenn es sich um die Darstellung der Spalte im fertigen Spirem und den Chromosomen handelt, aber auch hier hängt das Ergebnis sehr von der Färbung ab.

Während die späteren Prophasestadien — wie gesagt — verhältnismäßig sehr gut in der Flemmingschen Flüssigkeit konserviert werden, wirken dagegen die meisten der übrigen Flüssigkeiten mehr oder weniger alterierend. Nur Hermann und Merkel (vgl. Fig. 2) bewähren sich hier recht gut.

Ziemlich schlecht werden die früheren Prophasestadien in Kaiser, Tellyesniczky und Carnoy fixiert. Das junge Spirem tritt kaum als solches hervor; die feineren Strukturen werden entweder aufgelöst und sodann in anderer Weise gefällt — jedenfalls völlig zerstört (vgl. 1912c), sodaß der Kern mit einer granulierten, schlecht färbbaren Masse gefüllt erscheint, worin stärker gefärbte Partien oder Körner eingebettet sind (vgl. Textfigur 1). Die ungünstige Wirkung der Carnoy-Mischung spiegelt sich auch in einer einseitigen Anhäufung des Kerninhalts ab (Textfigur 1b). Auch in Merkel werden die



Textfigur 1a und b zwei Kerne aus der Teilungszone von Allium Cepa. a. Fixiert in Kaiserscher, b. in Carnoyscher Flüssigkeit. Hämatoxylinfärbung. c. Periblemkern aus einem Merkelpräparat. Nur die eigentümlichen Nukleolen sind gezeichnet. d. Kern aus einem Flemmingpräparat, die abnorme Kontraktion des Gerüsts um den Nukleolus zeigend.

früheren Prophasestadien sehr unvollkommen wiedergegeben. Die betreffenden Kerne enthalten zumeist ein grobes und schwach gefärbtes Gerüst und längliche, stark gefärbte Klumpen, die die erhaltenen stärkeren Teile der Spiremfäden vorstellen (vgl. 1912c). Diese Klumpen treten aber nicht in der Chromosomenzahl auf. Auch wenn die schwächeren Teile der Spiremfäden unter Umständen erhalten werden, sind sie so verändert, daß sie nur schlecht die Farbe annehmen (Textfig. 1a).

Die Fixierungsflüssigkeiten wirken auf die Strukturen der früheren Prophase im großen ganzen in derselben Weise wie auf die Ruhekerne ein. Die gröberen Strukturen der späteren Prophase und der Metaphase werden jedoch auch in Merkel und Tellyesniczky gut erhalten. In Spiremkernen, die mit einem großen, zentralen Nukleolus versehen sind, scheinen die Chromosomenbänder an seine Oberfläche gezogen zu sein. Vielleicht handelt es sich hier um ein Fixierungsartefakt.

§ 4. Kritik der Literaturangaben über Fasern usw.

Betreffend die besonderen Erscheinungen außerhalb des Kerns, die in der Prophase im Plasma sichtbar werden, sei erwähnt, daß Schaffner (1898) und Němec (1899) Polkappen beschreiben. Ersterer will zugleich Zentrosomen gesehen haben, was unrichtig ist.

Němec (1899) beschreibt mehrere eigentümliche Strukturen im Plasma. So findet er z. B. in den großen Zellen, aus denen sich später die großen Spiralgefäße entwickeln, sowie auch in den langgestreckten Zellen der künftigen Bastpartie „einen axial durch die Zelle ziehenden Streifen", welcher auch während der Kernteilung erhalten bleiben soll (vgl. a. a. O. 1899, Fig. 10, Taf. III). Ich habe bisweilen Bilder gesehen, die eine solche Struktur aufwiesen, glaube aber, daß man ihnen kein großes Gewicht beilegen soll, da sie nicht allgemein vorkommend sind und auch nicht im Leben aufgefunden werden können[1]). Němec hat auch „eine den Kern gleichmäßig umhüllende distinkte Plasmaschicht" in den jüngeren Rindenzellen gesehen (a. a. O. 1899, Fig. 11, 12, Taf. III). Auch in einer späteren Arbeit beschreibt er „um den Kern herum ein intensiver tingierbares, gewöhnlich körniges Plasma" (Němec 1900, S. 44). Dieses Plasma sei nicht selten an den Polen mächtiger entwickelt. Letztere Beobachtung kann ich bestätigen, dagegen scheint es sich mir dabei nicht um ein besonderes Plasma zu handeln. Auch habe ich keine dichtere Ansammlung um den ruhenden Kern gefunden. Es sei auch bemerkt,

[1]) Vergleiche hierzu auch Lundegårdh (1910b), S. 367.

daß ein mit Safträumen versehenes Plasma durchgehend schwieriger zu konservieren ist als das gleichförmigere Plasma der Urmeristemzellen. Eine ähnliche Ansammlung des Plasmas wie in der Fig. 117 bei Němec (a. a. O. 1899) habe ich ziemlich häufig beobachtet, sie findet aber mutmaßlich nicht in der von ihm geschilderten Weise statt (Němec 1899, S. 317).

Bisweilen habe ich auch „ziemlich dicke Fäden, die vom Kern zur Zellperipherie verlaufen", gesehen (Němec a. a. O. 1899, Fig. 6, 8, 17), halte sie aber für Artefakte; hierfür spricht auch die Bemerkung Němecs, daß man „zumeist an der Insertionsstelle eine knöpfchenförmige Ansammlung des peripheren, sich intensiv violett färbenden Hautplasmas beobachten" kann (a. a. O. 1899, S. 321). Außerdem habe ich niemals so ausgeprägte Fäden wie Němec beobachtet[1]). Sie bleiben auch nicht „während der ganzen Teilung erhalten". Interessant ist es, daß nach Miss Merriman (a. a. O. 1904) schlechter fixierte Zellen mehr Strahlungen enthalten sollen als besser fixierte. — In seinen „Neuen zytologischen Untersuchungen" bildete Němec sehr eigentümliche Strahlensysteme um den sich in Prophase befindenden Kern ab (a. a. O. 1900, Fig. 1, 2, S. 47). Da ich solche Strahlungen nicht im Leben und nicht in den mit Flemming, Merkel u. a. behandelten Zellen habe aufdecken können, muß ich sie, wenigstens zum großen Teil, für Artefekte halten. Es wäre undenkbar, daß solche Fäden in dem Körnerplasma vorhanden wären, ohne daß man sie im Leben beobachten könnte. Es ist aber dessenungeachtet schwierig, ein entscheidendes Urteil über diese und ähnliche Dinge in dem Protoplasma zu fällen. Ich begnüge mich mit der Bemerkung, daß diesen Fäden jedenfalls keine Bedeutung für die Mechanik der Kernteilung zukommen kann, sie mögen Artefakte vorstellen oder durch Strömungen und Ausfällungen in dem lebenden Plasma verursacht sein. Sie können höchstens als Symptome gewisser Erscheinungen oder Zustände in dem Plasma betrachtet werden, sollen aber nicht mit den bewegenden Ursachen der Metaphase in zu nahe Beziehung gebracht werden.

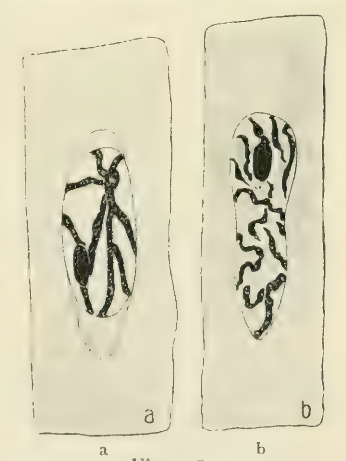
Dasselbe gilt von den Fasern innerhalb der Polkappen. Němec bemerkt richtig, daß das Innere der Polkappen anfangs hell ist, um dann teilweise durch Fasern oder Streifen erfüllt zu werden, die nicht in einem Punkt zusammenlaufen. Nach Němec sollen sie ferner immer „meridional", nie unregelmäßig verlaufen; ich dagegen fand, daß zwar die meisten in der Längsrichtung der Figur, viele dagegen auch in anderen Richtungen verlaufen (vgl. Fig. 3, 6, 7, 8). Němec

[1]) Auch Schaffner (a. a. O. 1898) hat ähnliche „systems of streams of cytoplasm passing out from the young spindle to the cell wall" beobachtet.

hat durchgehends mehr Fasern als ich gesehen, und ich bringe dies mit der offenbar schlechteren Fixierung seines Materials in Zusammenhang. Denn Tatsache ist, daß schlechte Konservierungsmittel nicht selten auffallend gut entwickelte Strahlensysteme „konservieren“, was nicht in besonders hohem Grade für die Präformation derselben spricht.

Němec bildet in seinen Fig. 10 u. 34 (a. a. O. 1899) unregelmäßige oder abgeplattete Polkappen ab. Ich habe zwar im Leben in einem Falle unregelmäßige Polkappen gefunden (Lundegårdh 1912 b), und auch in fixierten Präparaten erscheinen die Spindelräume bisweilen etwas unregelmäßig (Fig. 8, Taf. XI), ich kann aber nicht mit Bestimmtheit sagen, ob es sich hier um abnormale Erscheinungen handelt. Jedenfalls ist die regelmäßige Form der Polkappen vorherrschend.

Dagegen ist es unrichtig, wenn Miss Merriman die reale Existenz derselben ganz und gar leugnet. Nach ihr soll sich der Kern nur bei den Polen erweitern oder verlängern. Ich glaube aber, daß dies auf fehlerhafter Beobachtung beruht. Hier sei zugleich bemerkt, daß die äußere Begrenzung der Polkappen anfangs sehr scharf und membranös ist (vgl. Fig. 8; auch Němec hat dieselbe Beobachtung gemacht). In denjenigen Fällen, wo in der vorgeschrittenen Prophase keine Polkappen ausgebildet sind, habe ich keine Erweiterung der Polseiten des Kerns beobachtet. In Textfigur 2 habe ich zwei Zellen aus Flemmingmaterial etwas schematisch abgebildet. Die eine Zelle besitzt Polkappen, während dem anderen Kern (2 b) solche abgehen. Der Kern ist in beiden Fällen etwa übereinstimmend beschaffen, nur scheint das eine Ende desselben in 2 b etwas spitzer ausgezogen zu sein. Die Spiremfäden liegen der Kernmembran dicht an. Miss Merrimans Auffassung kann vielleicht auch aus der Beobachtung stammen, daß eben, wenn die Kernmembran aufgelöst wird, der Knäuel frei in dem von einer Membran nach außen begrenzten, erweiterten Kernraum zu liegen kommt (Fig. 3, Taf. XI; auch Fig. 7). Dieses Stadium scheint aber Miss Merriman ganz übersehen oder mißverstanden zu haben. Es sei bemerkt, daß das Plasma sich gegenüber dem Fixierungsmittel mmer empfindlicher als der Kern erweist, so daß die Polkappen bei der Fixierung eventuell zerstört oder de-



a b

Figur 2.
Zwei lange Pleromzellen von Allium Cepa. a. mit Polkappen; b. ohne solche. Fixierung: Flemmingsche Flüssigkeit. a. in Safran-Gentian. b. in Eisenhämatoxylin gefärbt.

formiert werden können. In den Präparaten sieht man auch Ausbuchtungen des Kerns und der Polkappen häufiger als im Leben. Miss Merriman hat ihre meisten Zeichnungen nach Chromessigsäure- und Pikrinsublimatpräparaten verfertigt. In ihrer Fig. 6 (a. a. O. 1904) „from another series fixed in Flemmings solution in which the chromatin is well preserved" sieht man Polkappen!

Daß die Polkappen unter Umständen den ganzen Kern wie eine eiförmige Hülle umgeben können, wurde schon von Schaffner beobachtet.

§ 5. Die Bildung der Äquatorialplatte. Die Metaphase-Chromosomen.

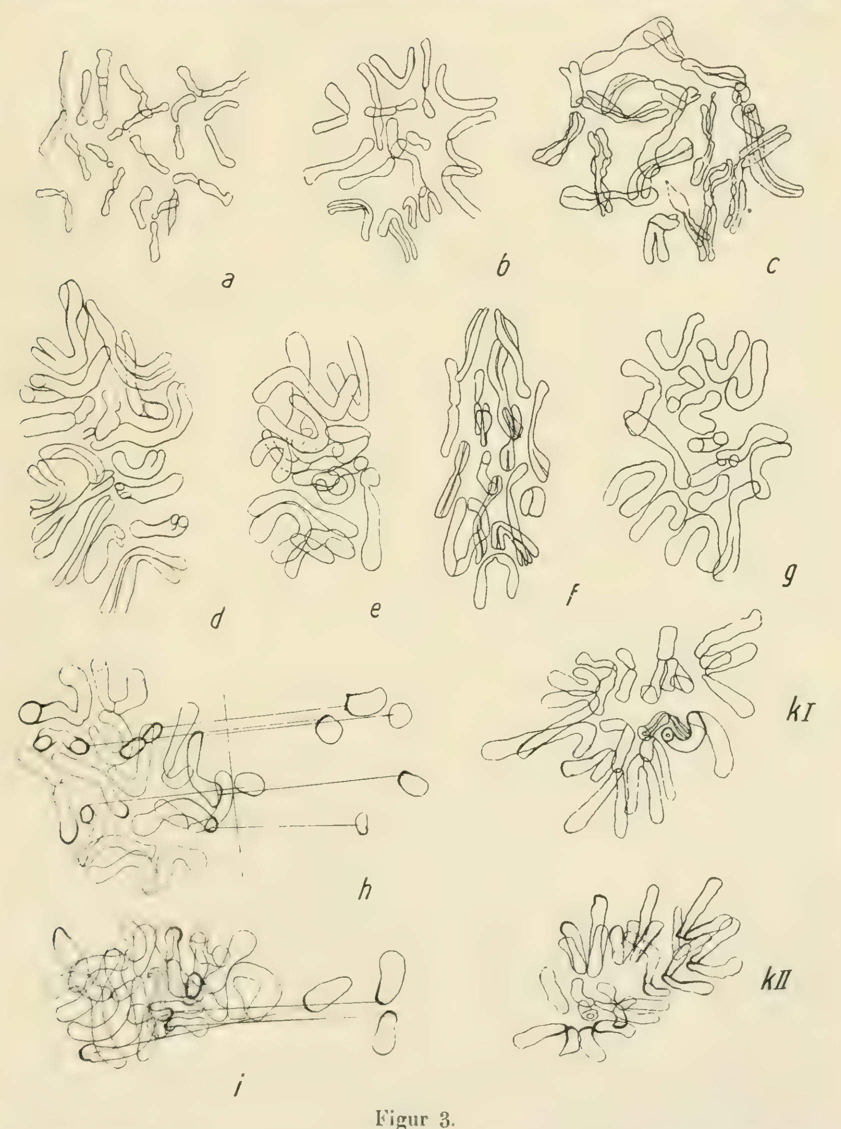
Wir schilderten in § 1, wie nach Auflösung der Kernmembran der Spiremknäuel zumeist in einer hellen Aushöhlung des Plasmas liegt (Fig. 3, 6—8, Taf. XI). Während der Vorstadien der Äquatorialplatte verschwindet allmählich, wie wir in Fig. 5, 6 und 9 sehen, die anfangs deutliche und relativ glatte Begrenzung dieser Aushöhlung, die durch die Polkappenbildung ursprünglich entstanden ist. In den Fällen, wo keine Polkappen gebildet wurden, dringt das Protoplasma nach der Membranauflösung bis an die äußersten Chromosomen hervor (vgl. Fig. 4, 5, 9, Taf. XI); die helle Aushöhlung entwickelt sich in diesen Fällen nur aus dem Raum innerhalb der Kernwandung.

Wir haben erwähnt, daß in dem hellen Raum um den Chromosomenhaufen häufig feine hyaline Fäden die äußersten Chromosomenbänder mit der Innenfläche der begrenzenden Plasmamasse verbinden (Fig. 3, 6—8, Taf. XI). Diese feinen und spärlichen Fäden können bei der Verwischung der Begrenzung zwischen dem Plasma und der hellen Aushöhlung noch erhalten werden (vgl. Fig. 6, Taf. XI); häufig vermißt man sie aber (Fig. 5, 9, Taf. XI). Das Plasma kann bei der unregelmäßigen Begrenzung nach innen feine Fortsätze bis an die Chromosomen treiben (vgl. Fig. 9, 11). Alle diese Fäden treten jedoch in solcher Weise auf, daß man ihnen keine morphologische Bedeutung zuschreiben kann.

Mittlerweile lagern sich die Chromosomen des Haufens so um, daß schließlich die Äquatorialplatte entsteht (Fig. 5 u. 9, Taf. XI). Diese Umlagerungen, die ziemlich schnell stattzufinden scheinen, können je nach der Konfiguration des Spiremknäuels (vgl. S. 386) in einfacheren oder komplizierteren Manipulationen der einzelnen Chromosomen bestehen. Ein näheres Verfolgen dieser Erscheinungen erscheint mir aber überflüssig. Ich möchte nur bemerken, daß nach der Auflösung der Kernmembran der Chromosomenknäuel entweder ziemlich dicht ist und in einer Spindelbildung liegt (vgl. Fig. 3, Taf. XI) oder, wie Fig. 5, Taf. XI, beschaffen ist. In der letztgenannten interessanten Figur sehen wir einen Spiremknäuel mit orientierten Chromosomen

schlingen kurz nach der Membranauflösung. Man ersieht, wie einige Schlingen noch ihre U-förmige Biegung beibehalten, während andere sich zu strecken begonnen haben. Die Chromosomen sind im Begriff, in die Äquatorialplatte eingeordnet zu werden, und vielleicht macht Fig. 9 ein späteres Stadium dieses Umordnungsvorgangs aus.

In der Äquatorialplatte lagern sich die Chromosomen gleichförmig, ohne daß jedoch eine bestimmte Orientierung in bezug auf-



Figur 3.
a—i Äquatorialplatten, k eine Anaphase aus einem in S.-G.-O. gefärbten Merkelpräparat. Schnittdicke 14 μ.

einander bemerkbar wird. Eine Paarigkeit der Chromosomen, wie dies für andere Objekte angegeben wird, habe ich bei *Allium Cepa* niemals entdecken können. Einen guten Beleg für die Richtigkeit dieses negativen Befundes machen die Äquatorialplatten aus, die ich in Textfig. 3 zusammengestellt habe. Sie sind sämtlich nach Querschnitten durch in Merkel fixierte und in Eisenhämatoxylin gefärbte Wurzeln gezeichnet, wobei alle Chromosomen mit der Camera in die Zeichnung eingetragen wurden (Fig. 3k stellt eine Anaphase dar). In keiner der hier wiedergegebenen Platten ist eine Paarigkeit der Chromosomen zu entdecken, und dasselbe gilt für alle anderen Äquatorialplatten, sei es an Seiten- oder Polansichten derselben, die ich in meinen Präparaten analysiert habe.

In geräumigen Zellen wird die Äquatorialplatte etwa kreisförmig (vgl. Textfig. 3a, b, c), in langen und schmalen Zellen wird sie in Polansicht langgestreckt und elliptisch, wobei sie eine schräge Lage einnimmt (Textfigur 3, d, e, f). Wie dicht die Chromosomen unter Umständen liegen, und wie verflochten sie sein können, geht z. B. aus Textfigur 3i hervor.

Die Chromosomen bei *Allium Cepa* sind ziemlich lang und schleifenförmig. Sie sind von derselben Dicke, aber wahrscheinlich von etwas wechselnder Länge, ohne daß man jedoch dabei eine Konstanz beobachten kann (vgl. Textfigur 3). Sie nehmen in der Äquatorialplatte meistens eine solche Lage ein, daß ein mittlerer Teil in dem Äquatorialplan liegt, während die Enden nach den beiden Polen gerichtet sind. Fig. 12, Taf. XI stellt einen dünnen Schnitt durch die Platte dar, weshalb man hier nur Stücke der langen Chromosomen sieht.

Die Chromosomen bei *Allium* sind immer frei, sie scheinen nicht mit ihren Enden zusammenzuhängen, wie es z. B. die Chromosomen bei *Vicia* häufig tun (s. Kap. 2).

Dagegen werden sie häufig in anscheinend unregelmäßiger Weise in die Quere segmentiert. Diese Quersegmentierung kann vielleicht schon in den Stadien der Fig. 2, 7, 9, Taf. XI beginnen, sie kann hier aber leicht mit einer eventuellen temporären Endverklebung der Chromosomenschlingen verwechselt werden[1]). In dem Stadium der Äquatorialplatte kommt diese Segmentierungstendenz sehr häufig in auffallender Weise zum Ausdruck. In Textfigur 3 sehen wir viele Beispiele derselben. Besonders wollen sich die Chromosomen gern in

[1]) Die Chromosomen der Metaphase sind, wie soeben gesagt, immer frei. Dies scheint auch zumeist schon im Stadium Fig. 2 der Fall zu sein. Jedoch könnten gewisse Erscheinungen in den Fig. 7 und 9 auf eine Endverklebung einiger Chromosomen hindeuten, wobei es freilich nicht ausgeschlossen ist, daß es sich hier um Artefakte handelt.

der Mitte segmentieren, in dem Winkel des V, den sie zumeist bilden. Die Segmente bleiben in der Regel noch verklebt, d. h. die Querspalte tritt nur wie eine mehr oder weniger tiefe Furche hervor, unter Umständen tritt aber eine vollständige Durchschnürung ein, so daß die Chromosomen in zwei oder mehrere Teile zerfallen. Auch in diesem Fall nehmen aber die Teilstücke eine solche Lage in bezug aufeinander ein, daß sich immer ihr gemeinschaftlicher Ursprung verrät (Beispiele in Textfigur 3).

Die erwähnte Tendenz der Chromosomen, in der Metaphase in zwei oder seltener mehrere Stücke zu zerfallen, ist sicher in verschiedenen Fällen und auch wohl bei verschiedenen Chromosomen desselben Kerns verschieden stark ausgeprägt. In Textfigur 3g sind z. B. alle Chromosomen ganz, während in Textfigur 3a eine sehr weitgehende Zerteilung stattgefunden hat. Und dazwischen gibt es alle denkbaren Übergänge. Auch läßt es sich nicht entscheiden, ob nur bestimmte Chromosomen in erwähnter Richtung instabil gebaut sind, oder ob die Zerteilung die Äußerung eines allgemeinen, nur in einzelnen Fällen verschieden ausgeprägten Zustandes ist. Die Wahrscheinlichkeit scheint mir jedoch für die letztere Behauptung zu sprechen.

Wichtig ist nun aber der Umstand, daß die Sichtbarkeit der Quersegmentierung anscheinend bis zu einem gewissen Grade von der Fixierung und Färbung der Präparate abhängig ist. Die Chromosomen sind bedeutend leichter zu fixieren als die Zustände des Kerns, in denen das Karyotin fein verteilt ist. In Flemming, aber auch in Hermann und Merkel werden sie z. B. gut erhalten. Die Äquatorialplatten in Textfigur 3 sind nach Merkelpräparaten gezeichnet. Am lebenden Material findet man einzelne quergeteilte Chromosomen[1]). Es ist nun aber nicht ganz sicher, ob dergleichen Chromosomen auch in der ganz intakten Wurzel vorkommen. In Anbetracht der großen Stabilität der Kernteilungsfiguren (vgl. Lundegårdh 1912b) erscheint es mir aber recht unwahrscheinlich, daß die Chromosomen bei der schnellen Einwirkung der Fixierungsflüssigkeiten Zeit gehabt hätten, sich zu segmentieren. Die Möglichkeit einer artifiziellen Zerteilung kann zwar nicht ganz außer Betracht kommen, nach dem häufigen Auftreten der Erscheinung läßt es sich aber behaupten, daß sie manchmal einen ursprünglichen Zustand darstellt.

Die Frage wird aber noch mehr kompliziert dadurch, daß bei verschiedenartiger Färbung und verschiedener Differenzierung die Chromosomen ein verschiedenes Aussehen bekommen können. Wir erwähnten schon in § 1, daß die Längsspaltung des Spirems bei gewisser Färbung (Safranin) sehr schlecht oder gar nicht hervortritt.

[1]) Siehe Lundegårdh 1912b, Fig. 9—11, Taf. II.

Auch in der Metaphase ist es ebenso. Fig. 12, Taf. I stellt eine Metaphase aus einem in Safranin-Gentianaviolett gefärbten Präparat dar, und die Chromosomen zeigen hier keine Spur einer Längsspaltung[1]). Und doch muß sie da sein, nach anderen Präparaten zu urteilen (vgl. Fig. 13, Taf. XI).

In ähnlicher Weise können wohl Querspalten bei ungenügender Differenzierung verdeckt werden. In den erwähnten Safranin-Präparaten erblickte ich viel weniger quergeteilte Chromosomen als in Hämatoxylinpräparaten oder in gut differenzierten oder alten S.-G.-O.-Präparaten. In einem Präparat nach einer in Merkel fixierten Wurzel, welches in Eisenhämatoxylin bei ziemlich weitgehender Differenzierung gefärbt wurde, treten sowohl die Längsspalte wie die Querspalten sehr scharf hervor (Fig. 10). In demselben Präparat waren die Spiremknäuel fast ganz entfärbt und die Chromosomen sehr dünn im Vergleich mit denen in Fig. 13, Taf. XI. Jedoch war eine Spiegelfärbung nicht sicher zu beobachten.

Es ist schwierig, aus den wechselnden Bildern, die man von den Chromosomen bei verschiedener Fixierung und Färbung erhält, ihr wahres Aussehen hervorzukonstruieren. Ziehen wir das lebende Material heran, so werden wir zu der Auffassung geleitet, daß ein solcher unregelmäßiger Aufbau der Chromosomen, wie in Fig. 10 oder in Textfigur 3a u. c, in der Regel nicht vorkommt. In dem Flemmingmaterial beobachtet man auch keine solchen Bilder. Die Chromosomen erscheinen hier gleich dick, und die Querspalten treten wie scharfe, helle Linien hervor. Ich kann also nicht umhin, zu behaupten, daß Merkel etwas alterierend wirkt. Andererseits kann es sich in Fig. 10 um durch die Färbung vorgetäuschte Strukturen in den Chromosomenhälften handeln. Die Farbe kann in unregelmäßiger Weise aufgelöst oder ausgewaschen worden sein. Die Chromosomen sind auch in der Wirklichkeit sicher bedeutend dicker als in dem nämlichen Fall. Daß sie nicht aus aneinandergereihten „Chromomeren" bestehen, ist sicher (vgl. Lundegårdh 1912c). Dagegen müssen wir es noch unentschieden lassen, ob die Verdeckung der Spalten bei unzureichender Differenzierung auf einem kapillaren Zurückhalten der Farbe beruhe (vgl. S. 381) oder darauf, daß die Chromosomenhälften von einer Hülle umgeben würden. Beobachtungen im Leben lassen sich jedoch nicht für eine solche Annahme anführen. — Die erwähnten Tatsachen mahnen sehr zur Vorsicht bei der Beurteilung von Spaltungs-

[1]) Dies hängt z. T. mit der Differenzierung zusammen. Aus demselben Präparat ist Fig. 8 gezeichnet. Auch hier ist die Spalte verdeckt. In anderen Safranin-Gentianaviolettpräparaten, und besonders wenn in Orange G differenziert wurde, kann sie dagegen sehr gut hervortreten (vgl. S. 387).

erscheinungen und feineren Strukturverhältnissen in den Chromosomen ausschließlich nach fixiertem und gefärbtem Material.

Die Querspalten in den Chromosomen, die wir folglich als Tatsache, obwohl nicht immer in der von gewissen Präparaten angezeigten Ausdehnung betrachten müssen, machen bei *Allium Cepa* fast niemals die Zählung der Chromosomen unsicher. Als Resultat vieler Zählungen ergibt sich die völlig konstant erscheinende Chromosomenzahl 16. Die Äquatorialplatten und Anaphasengruppen, die in Textfig. 3 abgebildet sind, weisen alle dieselbe Zahl der Chromosomen auf. Die Zahl 16 der Chromosomen bei *Allium Cepa* wurde vorher von Schaffner, Strasburger, Guignard und Grégoire gefunden. Unrichtig ist die Behauptung Miss Merrimans (1904, S. 195), daß die Chromosomenzahl inkonstant wäre, „apparently varying from ten to thirty or more“, und daß „the number of segments is dependent upon size and course of the spireme in the nucleus“. Fräulein Bonnevie (1908, Fig. 56) hat eine Zählung gemacht, laut welcher *Allium Cepa* 24 Chromosomen hätte. Nach den Zeichnungen der beiden Verfasserinnen zu urteilen scheinen sie nicht das Quersegmentierungsbestreben der einzelnen Chromosomen beobachtet zu haben, ihre Ergebnisse sind wohl daher ausschließlich auf fehlerhafte Methodik zurückzuführen. Die Chromosomen bei *Allium* sind zwar nicht so leicht zu zählen, wie diejenigen vieler anderer Objekte mit kürzeren Chromosomen, jedoch bedeutend leichter als bei *Vicia Faba*, wo die Chromosomen häufig mit den Enden zusammenhängen.

In verschiedenartigen Zellen der Wurzelspitze können wohl die Chromosomen eine etwas verschiedene Dicke und Länge besitzen In Textfig. 3a ist eine Äquatorialplatte aus einer Zelle gezeichnet, die sich ziemlich weit oberhalb des Teilungsoptimums befand. Die Chromosomen erscheinen hier etwas schlanker wie sonst. Möglicherweise hängt die hier außergewöhnlich starke Quersegmentierung derselben mit der Substanzarmut zusammen.

§ 6. Die Gestalt und Struktur der „Spindelsubstanz“.

In der Metaphase liegen die Chromosomen in einer hellen Masse, die nicht scharf von dem umgebenden Plasma abgegrenzt ist, und die der Polkappenbildung oder dem ursprünglichen Kernraum entstammt. Im Leben erscheint diese Masse völlig strukturlos, nur selten konnte eine unsichere Längsstreifung derselben beobachtet werden (vgl. Lundegårdh 1912b). In den fixierten Präparaten beobachtet man dagegen häufig feine Fasern, die zwischen den Chromosomen und den polaren Plasmaanhäufungen verlaufen (Fig. 9, 12, 13, Taf. XI). Diese Fasern sind in verschiedener Weise ausgebildet und in verschiedener Weise befestigt, wie man es aus den erwähnten Figuren ohne weiteres

ersicht. Sie können auch fast gänzlich fehlen oder sehr spärlich vorhanden sein. Überhaupt ist das Vorkommen dieser Fasern so wechselnd, daß es sich nicht in wenigen Worten schildern läßt; ich behaupte aber, daß wir in den erwähnten Figuren die meistens vorkommenden Typen dargestellt haben.

Recht selten findet man echte „Spindeln", wo alle Fasern in zwei Punkte an den Polen der Kernteilungsfigur zusammenlaufen. In diesen Fällen liegt nicht selten an der Stelle, wo alle Fäden sich begegnen, ein kleines Körnchen.

Häufiger kommen Spindelfiguren vor, in denen die Fäden unregelmäßiger verlaufen und keine spitzigen Pole ausgebildet werden (vgl. Fig. 11, Taf. XI). Interessant ist die Spindelfigur in Fig. 14, Taf. XII. Die Fäden sind hier einzeln, ziemlich grob und gekörnelt. Ferner haben sie größtenteils einen ganz geraden Verlauf, nur einige sind sektorial verbogen.

In vielen Fällen wird gar keine Spindelfigur gebildet, sondern an die Chromosomen befestigen sich größere oder kleinere Fadenbüschel, die entweder an den Polen zusammenlaufen oder meistens von kleinen Höckern oder Unebenheiten an den Chromosomen ausstrahlen (Fig. 7, 11, 12, Taf. XI). Weiter haben wir die zahlreichen Fälle zu verzeichnen, die wie Fig. 11 aussehen und wo die Fäden fein und sehr spärlich sind und eine nur sehr unvollkommene Orientierung in meridionaler Richtung aufweisen. Endlich sind die Fälle zu nennen, wo gar keine Fäden vorkommen, sondern wo die Chromosomen nur in einer hellen, mehr oder weniger zentral belegenen Plasmapartie liegen. Diese helle Partie des Plasmas kann unter Umständen etwas schärfer begrenzt sein, und bisweilen sieht man die hervorragenden Chromosomenenden in kleinen sackartigen Aushöhlungen des Körnerplasmas stecken (Fig. 12). Allein es handelt sich hier vielleicht um Artefakte.

Da im Leben „Spindelfasern" nicht sicher beobachtet werden können, läßt sich nur schätzungsweise ein Urteil über die eventuelle Präformation der oben beschriebenen Fäden gewinnen. Zuerst machen wir die Beobachtung, daß sogenannte Spindelfasern nicht nur in Präparaten zu sehen sind, die wir nach sachgemäßer Erwägung für gut konserviert halten sollen, sondern auch in schlechter konservierten, ja, man macht sogar die überraschende Entdeckung, daß sie in solchen Präparaten manchmal besser ausgebildet sind, als in den guten (vgl. S. 390). Nun läßt es sich zwar einwenden, daß das Plasma und die Kernstrukturen nicht immer in gleichem Maß für verschiedene Fixierungsflüssigkeiten empfindlich sind. Ich behaupte aber, daß so außerordentlich subtile Strukturen wie die Spindelfasern kaum durch ein Fixierungsmittel erhalten werden können, welches die immer relativ widerstandsfähigen groben Kernstrukturen deformiert. Jedoch soll

bemerkt werden, daß die helle Masse, worin die Spindelfasern erscheinen, vielleicht einen gelatinösen Charakter besitzt. Für Artefakte spricht wiederum die allgemeine Beobachtung, daß die Fasern auffallend häufig gerade sind (Fig. 3, 6—8, 12, 14). Wären sie präformiert, so würden sie wohl bei der durch die Fixierung eintretenden Kontraktion des Protoplasten verbogen worden sein, entstünden sie aber erst durch die ausfüllende oder körnchenanreihende Wirkung des Fixierungsmittels (bzw. des Alkohols bei dem Auswaschen), so ließe sich ihr gerader Verlauf wohl verstehen. In anderen Fällen sind sie nun wirklich gebogen (Fig. 13, 15, Taf. XII), ebenso sind sie sichtbar in verschiedener Weise aufgebaut — man kann zwischen feinen, glatten (Fig. 11—13) und gekörnelten, gröberen Fäden (Fig. 14, 15), zwischen einzelnen Fäden und Fadenbüscheln (Fig. 12) unterscheiden — und treten überhaupt in so wechselnder Weise auf, daß man wohl der Wahrheit am nächsten kommt, wenn man eine teilweise Präformation und eine teilweise artifizielle Entstehung derselben annimmt. Tatsächlich ist unter Umständen an dem lebenden Material die Andeutung einer Streifung der hellen Masse, worin die Chromosomen liegen, zu beobachten (vgl. Lundegårdh 1912 b, S. 251). In der Anaphase habe ich in einem Falle im Leben deutliche, grob gekörnelte Fäden, die die Chromosomenhaufen verbanden, beobachtet (vgl. Lundegårdh, 1912 b, Fig. 11, Taf. II), und diese Fäden besitzen eine auffallende Ähnlichkeit mit den in Fig. 15, Taf. XII vorhandenen. Ähnliche grob gekörnelte Fäden sehen wir auch in Fig. 14; sie sind aber hier gerade.

Was nun die artifizielle Entstehung von Fäden anbetrifft, so haben wir uns diese entweder wie einen augenblicklichen Ausscheidungsvorgang oder in der Weise vorzustellen, daß präformierte oder neu gefällte Körnchen aneinandergereiht werden. Wie aus den Figuren zu sehen ist, verlaufen die Fäden häufig zwischen kleinen Höckern an den Chromosomen und Körnchen oder dichteren Massen im Plasma. Wie A. Fischer (1899) gezeigt hat, werden artifizielle Fäden unter ähnlichen mechanischen Bedingungen erzeugt. Andererseits dürften im Leben durch die während der Metaphase herrschenden Wechselbeziehungen zwischen den polaren plasmatischen Ansammlungen (die häufig Granula enthalten) und den Chromosomen Störungen verursacht werden, die feine Substanzverbindungen zwischen Plasmamassen und den den Polen am nächsten liegenden Teile der Chromosomen hervorrufen können (vgl. Kap. 5). Auch könnten durch die genannten Wechselbeziehungen kleine Warzen oder Pseudopodien an der Oberfläche der Chromosomen entstehen. Solche kleine Fortsätze sieht man bisweilen bei *Allium* (vgl. die Figuren), sie sind aber hier bedeutend weniger ausgeprägt, als bei gewissen anderen Pflanzen.

Wie man sieht, wird das Problem der Spindelfasern um so mehr kompliziert, je weiter man in es dringt. Wir wollen an dieser Stelle nur betonen, daß den Spindelfasern allem Anschein nach keine mechanische Bedeutung zukommt. Wir besitzen keine Anhaltspunkte für die Annahme, daß sie mit der Bewegungsmechanik der Chromosomen im direkten und aktiven Zusammenhang ständen. Sie sind also keine „Zugfasern“. Dieses geht wohl aus meinen morphologischen Untersuchungen wie auch aus theoretischen Betrachtungen hervor (vgl. Kap. 5).

Eine totale Abwesenheit von Fasern zeichnet zumeist die Epidermiszellen oder überhaupt die peripherischen Zellen der in Flemming fixierten Wurzeln aus. Dies darf nicht unbedingt als ein Argument für ihre artifizielle Entstehung im Innern der Wurzel angeführt werden. Denn die verschiedenen Bestandteile der Flemmingschen Flüssigkeit verbreiten sich nicht gleich schnell in dem Gewebe, sie dringen mit verschiedener Geschwindigkeit in dasselbe hinein, so daß häufig erst in nicht oberflächlich belegenen Zellschichten die maximal vorzügliche Wirkung derselben entfaltet werden kann (vgl. Lundegårdh 1912a).

Direkt gegen die Zugfaserhypothese spricht das Aussehen der meisten Spindelfiguren, wenn man sie eingehend analysiert. Keineswegs alle Chromosomen sind mit Fasern versehen, diese sind häufig nicht meridional gerichtet, und am meisten sind Fasern sowohl polwärts wie äquatorialwärts an den Chromosomen befestigt, ohne daß man eine Verschiedenheit der Fasern entdecken kann. Manchmal verlaufen die Fäden zwischen den polaren Plasmaanhäufungen, ohne die Chromosomen zu berühren (vgl. z. B. Fig 14, Taf. XII). Diese Fasern von denjenigen morphologisch zu unterscheiden, die nur bis an die Chromosomen reichen, finde ich sowohl in theoretischer wie praktischer Hinsicht völlig überflüssig.

Verlangt man entscheidende Argumente gegen die Zugfasertheorie, so bedarf es nicht langen Suchens. Betrachten wir uns z. B. näher Fig. 12, Taf. XI. Diese Figur stellt einen Schnitt durch eine Metaphasenfigur vor; die Längsspalte in den Chromosomen ist — wie oben erwähnt — verwischt[1]). An einige dieser Doppelchromosomen setzen Fädenbüschel an, aber nur an der einen Seite. Die andere Chromosomenhälfte liegt völlig nackt![2])

Dieselbe Figur, die genau verfertigt wurde, ist auch in anderer Hinsicht interessant. Rechts unten sehen wir einen Fadenbüschel,

[1]) Man sah wohl eine Andeutung von derselben, so daß die Richtung der Teilungsebene bestimmt werden konnte.

[2]) Ein paar Bündel reichen nicht bis an die Oberfläche der Chromosomen; sie dürften durch die bei der Einbettung stattfindende Kontraktion des Zellinhalts davon entfernt worden sein.

der von einem kleinen Körnchen im Plasma ausstrahlt: Also ein guter Beweis für die geringe morphologisch-theoretische Bedeutung solcher Strahlungen! An der Oberfläche der roten Chromosomen findet man bei genauer Beobachtung kleine, unregelmäßige, violett gefärbte Körnchen, von welchen bisweilen (Fig. 12, das Chromosom links) Fäden ausgehen. Diese Körnchen ähneln völlig denjenigen, die ich an lebendem Material in Fig. 11, Taf. II einer andern Abhandlung (1912 b) abgebildet habe (S. 399). Man kann dies als ein Beweis für die gute Erhaltung der Chromosomen in der Flemmingschen Flüssigkeit betrachten.

§ 7. Die Nukleolen in der Prophase und Metaphase.

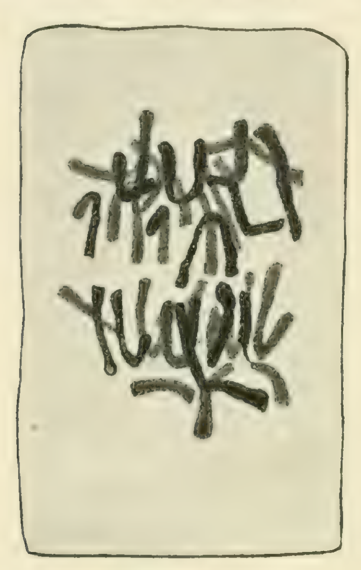
Die Nukleolen verhalten sich während der Spirembildung, nach den Beobachtungen an lebendem Material zu urteilen, in einer sehr eigentümlichen Weise. Während sie in dem Ruhezustand rund oder eiförmig sind, werden sie in der Prophase amöbenähnlich (s. Lundegårdh 1912 b, S. 248). Das fixierte Material eignet sich sehr wenig für das Studium dieser Formveränderungen des Nukleolus. Ich habe in fixierten und gefärbten Präparaten niemals amöbenähnliche Nukleolen in der Prophase gesehen. Sie erscheinen hier fortwährend rund oder eiförmig, oder sie werden etwas unregelmäßig, aber niemals sieht man pseudopodienartige Vorsprünge (vgl. die Figuren auf Taf. IX u. XII). Offenbar ist die Substanz der Nukleolen in diesen Stadien ziemlich leichtflüssig, sicher leichtflüssjger als das Karyotin, so daß sie nicht hinreichend schnell erstarren kann, um ihre besondere Form zu erhalten. Die Amöben lassen sich bekanntlich kaum in natürlichem Zustande konservieren.

In Übereinstimmung mit den Beobachtungen an dem lebenden Material konnte man auch in fixierten Präparaten extranukleare Nukleolen in der Metaphase erwarten. In Flemmingpräparaten sucht man aber vergebens nach solchen Bildungen. In Merkelpräparaten findet man aber häufig deutliche, runde Nukleolen, die zwischen den Chromosomenschlingen liegen. Offenbar werden sie in Flemming aufgelöst. Ein Auswandern derselben habe ich auf dem fixierten Material in keinem Falle indirekt beobachtet, und überhaupt habe ich die Erfahrung gemacht, daß die Verwandlungszustände der Nukleolen bei der Fixierung ziemlich schlecht erhalten werden.

§ 8. Anaphase.

Das Auseinanderweichen der Chromosomenhälften geht, nach der Seltenheit solcher Bilder zu urteilen, rasch vonstatten. Zumeist weichen die Schlingen zuerst an der Mitte auseinander. Die nach

den Polen wandernden Chromosomenhälften bekommen daher häufig V-Form (Fig. 15, Taf. XII). Dies ist aber — besonders kurz nach dem Auseinanderweichen — keineswegs immer der Fall. Man findet neben V-förmigen Schlingen, welche den Winkel gegen die Pole wenden, auch mehr oder weniger gerade oder unregelmäßig gebogene Schleifen, ferner sieht man häufig U-förmige Schlingen, die mit den freien Enden voraus nach den Polen wandern (Textfigur 4 und Fig. 14, Taf. XII). Der Vorgang bietet also einen ziemlich wechselnden Anblick dar. Es ist aber nicht unwahrscheinlich, daß die Tochterchromosomen jedes Haufens, wenn sie an die Pole gekommen sind, sich etwas mehr übereinstimmend orientieren (vgl. Fig. 15, Taf. XII). Jedenfalls treten sie dort ziemlich dicht zusammen, ohne jedoch zu verschmelzen oder einander innig zu berühren, und bilden ziemlich gleichmäßig aussehende Gruppen. Dabei können aber fortwährend einzelne Schlingen aus einer Gruppe frei in das Plasma hinausragen, und eine völlig übereinstimmende Orientierung sämtlicher Chromosomen läßt sich wohl, mit Kenntnis ihrer unregelmäßigen Wanderungsweise, kaum behaupten. Die Chromosomen in den sich neubildenden Kernen dürften daher meistens nicht so übereinstimmend orientiert sein, wie es die Spiremfäden in der Prophase manchmal sind (vgl. S. 382).



Figur 4.
Anaphase mit in verschiedener Weise gebogenen und orientierten Chromosomen. Merkelfixierung.

Die lebenden Chromosomen sind in den Meta- und Anaphasen zylindrische Bildungen, die völlig glatte Konturen besitzen. Nach Fixierung und Färbung weisen sie aber zumeist eine rauhe oder wellige Oberfläche auf (Fig. 13, 14, Taf. XI). Zweifelsohne ist diese ein Artefakt. In anderen Fixierungsflüssigkeiten als Flemming wird auch die Deformation der glatten Oberfläche noch bemerkbarer (vgl. z. B. Textfigur 4, die nach einem Merkelpräparat gezeichnet wurde), ja die zylindrische Form der Chromosomen, die zumeist, aber nicht immer, in Flemming erhalten wird, wird in Merkel und noch mehr in Zenker, Tellyesniczky, Kaiser und Carnoy in der angegebenen Reihenfolge entstellt. Aus dem Umstand, daß die Oberfläche der Chromosomen runzelig oder wellig wird, läßt sich vielleicht die Annahme einiger Forscher erklären, daß die Chromosomen aus „Chro-

momeren" aufgebaut wären. Bei weit getriebener Entfärbung wird nämlich die Farbe länger in den dickeren Partien erhalten. Bei unvorteilhafter Konservierung kann diese scheinbare Zerteilung der Chromosomen noch bemerkbarer werden (vgl. Fig. 10, Taf. XI; 1912a, S. 241).

In der Anaphase sieht man häufig Fäden zwischen den beiden Chromosomengruppen, seltener erblickt man aber — bei guter Fixierung — solche an den Polarseiten. Für diese Fäden gilt im allgemeinen dasselbe, was wir vorhin über die Spindelfäden erwähnten. Der Raum zwischen den Tochterchromosomenhaufen ist zumeist von einem Gerinnsel erfüllt, das jedoch nicht so dicht wie das umgebende Plasma erscheint (Fig. 14, 15). Fäden verbinden häufig die Enden antagonistischer Chromosomen miteinander (Fig. 15).

Sind die Chromosomen in den zwei polaren Plasmaanhäufungen definitiv angesammelt, so treten sie mehr oder weniger dicht zusammen, ohne jedoch einander direkt zu berühren, dann sieht man Anastomosen zwischen ihnen gleichzeitig damit, daß die zentrale Vakuolisierung der Chromosomen fortschreitet. Sodann entsteht die Kernmembran, die anfangs unregelmäßig zwischen den hervorragenden Chromosomenenden ausgespannt wird (Fig 16, Taf. XII). Die neugebildeten Tochterkerne sind häufig nierenförmig (vgl. Fig. 16, Taf. XII). Die unregelmäßige Gestalt der Kerne wird ziemlich lange beibehalten, sie gleicht sich nur bei fortgeschrittener Vakuolisation der Chromosomen aus. Bald tauchen zwischen den letzteren die Nukleolen auf. Alle diese Stadien treten etwa in derselben Weise in dem fixierten wie in dem lebenden Material hervor. Die Gestalt des Kerns und die Verteilung des Karyotins werden in der Flemmingschen Flüssigkeit gut erhalten.

In der Anaphase und Telophase dürfte ebensowenig wie in der Prophase ein kontinuierliches Spirem entstehen (vgl. Fig. 16, Taf. XII). Ich schließe mich also hier Grégoire und Bonnevie an, während die gegenteiligen Angaben Schaffners, Němecs und Merrimans auf unzureichende Kritik hinsichtlich der Fixierungsmittel zurückzuführen sind. Selbstverständlich gilt über die Selbständigkeit der Chromosomenindividuen als morphologischer Bildungen dasselbe, wie in § 1 über die Prophase gesagt wurde. Ihre morphologische Selbstständigkeit wird im Laufe der Rekonstruktion des Tochterkerns allmählich aufgegeben. Die Vakuolisations- und Anastomosierungsvorgänge sind schuld daran. Eine vorzugsweise Verbindung der Enden der Chromosomen findet aber nicht statt. Sie gehen getrennt in die Bildung des gleichförmigen Gerüstwerks auf, ebenso wie sie sich in der Prophase getrennt aus dem Gerüstwerk herausdifferenzieren. Als morphologische Individuen gehen sie in der Telophase zugrunde

(sofern sie nicht z. T. in einer kurzen Interphase überdauern; 1912c), aber ihre Substanzen könnten doch fortwährend getrennt bleiben.

Über die Anlage der Scheidewand habe ich nicht viel zu berichten. Am lebenden Material war von diesem Vorgang nichts zu sehen (1912 b, S. 253). Ein deutlicher Phragmoplast wird, nach den Präparaten zu urteilen, kaum gebildet. Jedoch zeichnet sich der Zwischenraum zwischen den Kernen durch eine besondere Plasmaart aus, in welcher in den Flemmingpräparaten zumeist wenige, bei anderer Fixierung häufig sehr viele in der Längsrichtung verlaufende Fäden zu beobachten sind. Die Scheidewandbildung schreitet in bekannter Weise zentrifugal fort (Fig. 16, Taf. XII).

Němecs Angaben über Spindelfäden. In den Spindeln hat Němec (1899, 1900) in seinen Präparaten „achromatische Fäden" gesehen. Wir führten schon in § 4 die Němecschen Ergebnisse auf nicht einwandsfreie Fixierung zurück, die die Entstehung artifizieller Fasersysteme bevorzugt. Schon in der Prophase observierte Němec eine große Menge Fasern. In der Metaphase kämen nach ihm „mehrere achromatische Elemente zum Vorschein: 1. feine Fäserchen, welche die eben getrennten Chromosomen verbinden oder von denselben in das Zytoplasma auslaufen; 2. dicke Fasern, welche die Knickungsstellen oder die Mittelpunkte der Chromosomen verbinden" (Němec 1899, S. 328). „Die ersten Fäserchen erscheinen sofort nach dem Auseinanderweichen der Chromosomenhälften." Němec hat wohl hier die Körnchenreihen gesehen, die schon im Leben vorkommen (S. 399 und Fig. 15, Taf. XII, vgl. damit Fig. 22 bei Němec 1899). Die wellige Krümmung der Fasern führten wir oben auf die unvermeidliche Schrumpfung des Plasmas bei dem Präparieren zurück. Němec glaubt dagegen, „daß sie sich ungleich mehr verlängern, als die Chromosomen sich von einander entfernen." (!) Die unter Nr. 2 bei Němec beschriebenen Fasern habe ich bei guter Fixierung nicht aufgefunden. Die an den Polen befindlichen Fasern sollen nach Němec in der Anaphase sich zu einer „dunkel färbbaren, fast ganz homogenen, später körnigen Masse" verwandeln (a. a. O. 1899, Fig. 9), aus der später die Nukleolen der Tochterkerne hervorgingen. Dies ist nicht zutreffend. Die „dunkle Masse" kann man wohl andeutungsweise erkennen. Sie besteht aber einfach aus dem schon während der Prophase angehäuften Polarplasma. Die Nukleolen entstehen aber immer im Innern der Tochterkerne und niemals in der von Němec beschriebenen und abgebildeten Weise.

Kapitel 2. Beobachtungen an Vicia Faba.

§ 1. Das Spirem.

Die Längsspaltung und die Fixierung des Spirems. Über diese gilt dasselbe, was schon in Kap. 1 § 1 mitgeteilt wurde. Die Spalthälften scheinen sich einander in dem fertigen oder fast fertigen Spirem zu nähern, obwohl immer eine Kontinuität der Spaltung beobachtet werden kann. Durch die Fixierung verursachte Alterationen kommen bei *Vicia* häufiger als bei *Allium* vor. In Fig. 17, Taf. XII sind die Spiremschlingen z. T. recht sehr alteriert. Man sieht hier auch eine jener vakuolisierten Scheiben, die nach dem, was ich anderorts mitgeteilt habe (1912 a), immer ein Zeichen mangelhafter Fixierung sind. Man beobachtet in der erwähnten Figur sogar Verklebungen zwischen Spirembändern und Nukleolen.

Auch bei *Vicia* kann die Längsspaltung bei ungeeigneter Fixierung und Färbung verwischt werden. Flemming ist hier wie sonst die beste Flüssigkeit, obwohl sie selbstverständlich kein ideales Fixierungsmittel vorstellt. In Hermann werden besonders leicht künstliche Vakuolenbildungen im Karyotin erzeugt, wodurch die Spalte zum Verschwinden gebracht werden kann (vgl. 1912 c). Nach Fixierung mit Merkel kommt die Spalte zumeist deutlich zum Vorschein (Fig. 20, Taf. XII). Auch in den übrigen Fixierungsflüssigkeiten kann die Längsspalte der Spirembänder gut zutage treten. In Fig. 26, 27, 28, Taf. XII, sind drei Kerne aus einem Tellyesniczkypräparat abgebildet. Die Längsspaltung beobachtet man ebenso deutlich, wenn nicht deutlicher als in Flemmingpräparaten. Überhaupt werden die Spiremstadien sehr gut in der Tellyesniczkyschen Flüssigkeit erhalten, und keine Verklebungen der Schlingen treten ein. Die Kaisersche Flüssigkeit konserviert das junge Spirem weniger gut, was mit dem schlechten Erhalten der feineren Strukturen zusammenhängt. Fig. 25, Taf. XII stellt einen Kern aus einem Kaiserpräparat dar. Die Spiremfäden sind stellenweise schwächer gefärbt. Die Art und Weise, wie das etwas ältere und dickere Spirem bei der Fixierung erhalten wird, geht aus Fig. 24 hervor. Das fertige Spirem wird schon erheblich besser konserviert, wie man aus Fig. 23 ersieht. Man findet aber, daß die Schlingen stellenweise verdickt und verklumpt sind, daß seitliche Verklebungen stattfinden und daß die Längsspaltung schlecht hervortritt. Sie ist jedoch spurenweise zu erkennen, und dies ist sie auch in der früheren Prophase. In Sublimatessig scheint das Karyotin teilweise zusammenzufließen, so daß Verklumpung oder Verdickung vorhandener Stukturen eintritt. Im Ruhestadium und der früheren Prophase ist der Kern häufig mit größeren und kleineren Klumpen angefüllt.

Auch in der Tellyesniczkyschen Flüssigkeit, die — wie gesagt — die späteren Spiremstadien sehr gut konserviert, werden die früheren Spiremstadien in einer eigentümlichen Weise alteriert. Das Spirem nimmt größtenteils die Farbe nur schlecht an, oder es wird teilweise aufgelöst, so daß es nur schwach hervortritt, während stellenweise stärker gefärbte Substanzanhäufungen beobachtet werden können (siehe Fig. 30a, Taf. XIII).

Die Carnoysche Flüssigkeit, die die früheren Prophasenstadien sehr entstellt, so daß man meistens nur gefärbte, in einer schwach gefärbten, körnigen, flockigen oder fädigen Grundmasse liegende Klumpen sieht, fixiert jedoch leidlich das fertige Spirem.

Im großen Ganzen muß daher das fertige Spirem als ein in Fixierungshinsicht sehr stabiles Stadium betrachtet werden, was mit dem massigen Auftreten des Karyotins, der Abwesenheit von Anastomosen und der Substanzarmut der Kerngrundflüssigkeit zusammenhängt (vgl. 1912a, b, c).

Nachdem das Spirem völlig ausgebildet ist, so daß die Chromosomen nicht seitlich durch Fäden verbunden werden, kann auch die Längsspaltung bei verschiedener Präparation verschieden deutlich hervortreten (Fig. 21, 22, 29, Taf. XII, 30, 33, 34, Taf. XIII). Im allgemeinen gilt hierüber dasselbe, was wir bei *Allium Cepa* fanden. Die Längsspaltung tritt folglich schlecht in neuen Safraninpräparaten, besser in Eisenhämatoxylin- und sehr gut in alten Safraninpräparaten hervor. Fig. 31, 32, Taf. XIII beziehen sich auf ein altes Safraninpräparat (Flemmingfixierung), und die Chromosomen sehen hier durchgehends wie Doppelfäden aus. In Fig. 30 dagegen, die nach einem in S.-G.-O. gefärbten Merkelpräparat gezeichnet ist, ist die Längsspaltung stellenweise ganz unsichtbar. Bei geeigneter Färbung kann man aber nach Fixierung mit Flemming und Merkel die Kontinuität der Längsspaltung durch alle Stadien des Spirems bis zur Äquatorialplatte verfolgen. In Hermannpräparaten ist sie aber auch in späteren Stadien manchmal völlig verschwunden. Fig. 33, Taf. XIII stellt einen Kern in späterem Spiremstadium nach Hermannfixierung und Eisenhämatoxylinfärbung dar. Die Chromosomen erscheinen völlig homogen. In anderen, wie z. B. in Fig. 21, Taf. XII, kann aber die Spalte sehr deutlich hervortreten, und das Stadium ist dasselbe. Man sieht also, daß Vorsicht geboten ist, wenn man sich über eine angeblich mangelnde Kontinuität der Spalte aussprechen will. Jedoch sind möglicherweise die Fixierungs- und Färbungsverhältnisse nicht allein schuld an der so wechselnden Konservierung der Längsspalte. Schon in dem lebenden Zustand könnte ja die Weite derselben bald größer bald kleiner sein.

In gewissen Fällen kann die Spalte sehr weit werden. Fig. 19,

Taf. XII stellt ein Stück eines in Flemming fixierten, in Hämatoxylin gefärbten Präparats vor, worin man drei Chromosomen im Spiremstadium beobachtet. Die Spalthälften desselben liegen stellenweise sehr weit auseinander, und das ganze Bild erinnert lebhaft an das Strepsinemastadium der heterotypischen Teilung (vgl. hierzu die Ausführungen im Schlußkapitel meiner Abhandlung 1912 c). Auch in Fig. 31, 32, Taf. XIII, ist die Spalte in den Chromosomenschlingen sehr weit, was hier jedoch mit der starken Differenzierung zusammenhängen könnte.

Aussehen des Spirems. Das Spirem kann ein in verschiedenen Zellen wechselndes Aussehen darbieten, indem die Chromosomen bald länger und dünner, bald kürzer und dicker sind. Ob der Charakter des Spirems mit dem morphologischen Charakter der Anfangsstadien oder mit physiologischen Verhältnissen, wie Karyotingehalt und Lage der Zellen im Gewebeverband zusammenhängt, kann ich nicht sagen. In den großen und sich langsam teilenden Zellen des Pleroms findet man häufig ein langes und dünnes Spirem, wie in Fig. 22, Taf. XII, und in kleineren und sich schneller teilenden Kernen ein kürzeres und dickeres; genauere Angaben hierüber kann ich aber nicht geben.

Die Chromosomenschlingen. Die Chromosomen sind im Spiremstadium meistens frei, nicht selten beobachtet man aber in den Kernen einzelne Endverklebungen derselben (vgl. bes. Fig. 33, Taf. XIII), die vielleicht z. B. durch die Fixierung entstanden sind. In Anbetracht der Entwickelungsweise der Chromosomen ist es aber nicht überraschend, daß sie bisweilen durch Fäden endweise verbunden bleiben. In ganzen Kernen in 12—14 μ dicken Schnitten durch die Wurzelspitzen kann man nach sorgfältiger Abbildung derselben die langen Chromosomenschleifen zählen. In Fig. 26—28, Taf. XII, habe ich drei Kerne aus einem Tellyesniczkypräparat möglichst genau gezeichnet. Wegen der Endverklebung einiger Chromosomen und ihres Segmentationsbestrebens (siehe § 3), ist es nicht leicht, ihre Anzahl genau zu bestimmen. Wie man aus den Figuren ersieht, schwankt aber die Zahl nur unbedeutend; man kann die Zahl der Chromosomen auf etwa 12—15 feststellen.

Die Chromosomen sind in diesen Stadien meistens sehr lang und schleifenförmig, man sieht aber auch bisweilen kürzere Schlingen (z. B. oben in Fig. 28, Taf. XII). Ich kann nicht sagen, ob diese schon von Anfang an kürzer waren, oder ob die Verkürzung und Verdickung der Schlingen bei Annäherung an die Metaphase bei allen nicht gleich schnell erfolgte. Jedenfalls sind die Chromosomen der Metaphase deutlich verschiedener Größe (§ 3). Die Verkürzung und Verdickung der Chromosomen in den Stadien vor der Membranauflösung ist zugleich eine der Ursachen, die das wechselnde Aussehen der Spirem-

stadien veranlassen, jedoch werden am Ende nicht die Chromosomen aller Metaphasen übereinstimmend gestaltet, sondern man findet auch hier längere und schlankere, desgleichen kürzere und dickere, was wahrscheinlich eben auf die verschiedenen Gestalten der Spiremfäden zurückzuführen ist.

Orientierung der Chromosomenschlingen. Die Chromosomenschlingen im Spiremstadium sind häufig nach Rablscher Weise orientiert (vgl. Fig. 29, Taf. XII). Diese Anordnung ist aber keineswegs immer vorhanden (vgl. Fig. 26, 28, Taf. XII, 30, 34, Taf. XIII). Wie man sehr schön aus Fig. 27 ersieht, verlaufen die langen Schlingen in mehreren Buchten und Windungen; in Fig. 28 sind einige zweischenklig, andere schleifenartig gestaltet. Hier ist die Verkürzung der Schlingen auch weiter gegangen, und die Schlingen nehmen alsdann allgemeiner regelmäßigere Gestalten an. Vielleicht gehen auch Umlagerungen im Kern kurz vor der Membranauflösung vonstatten. Keine Gesetzmäßigkeit läßt sich aber hier konstatieren.

§ 2. Polkappen. Nukleolen.

Ebenso wie bei *Allium Cepa* scheinen bei *Vicia* Polkappen kein unbedingt notwendiges Akzessorium bei der Kernteilung zu sein. Freilich sieht man häufig Polkappenanlagen, ich habe aber auch Kerne wie in Fig. 21, Taf. XII und 33, Taf. XIII, beobachtet, die mehr oder weniger spindelartig verlängert waren. Jedoch habe ich Polkappen bei *Vicia* häufiger als bei *Allium* beobachtet. Es sei auch bemerkt, daß ihre Anlage in beiden Pflanzen früher oder später beginnen kann, es ist daher schwierig, sich zugleich kurz und entscheidend über ihr Vorkommen zu äußern.

Die Morphologie der Polkappen ist bei *Vicia* etwa dieselbe wie bei *Allium,* so daß ich hier keine nähere Schilderung von denselben zu geben brauche. Selten heben sich beide Kappen gleichzeitig von der Kernmembran ab, weshalb sie auch später in verschiedener Stärke ausgebildet zu sein pflegen (Fig. 28, Taf. II, 34 Taf. III). Jedoch scheinen sie in vielen Fällen bei dem Zeitpunkt für die Membranauflösung übereinstimmend entwickelt zu sein (vgl. Fig. 32, 35, 36, Taf. XIII). Über das Vorkommen von feinen, schwach gefärbten Fasern in den verschiedenen Stadien ihrer Ausbildung gilt im großen ganzen dasselbe wie bei *Allium Cepa*, und da wir dort diese Verhältnisse ziemlich eingehend schilderten, begnüge ich mich hier mit einem Hinweise auf die betreffenden Abbildungen auf Taf. XII und XIII.

In Fällen, wo Polkappen nicht oder nur spät entwickelt werden, pflegen die polwärts belegenen Teile des Kerns etwas ausgezogen zu sein; der Kern nimmt mit anderen Worten eine ellipsoidische Gestalt an. Bisweilen sieht man eine Chromosomenschlinge eben an den

Enden der großen Achse liegen, und man kann dabei eine höckerartige Ausbuchtung der Membran beobachten (Textfig. 5). Vielleicht ist jedoch die Fixierung schuld an diesen Erscheinungen. Sonst würden die erwähnten Gestaltsveränderungen des Kerns für eine Attraktion zwischen dem Kerninhalt und dem Plasma, das hier wie bei *Allium Cepa* etwas stärker an den künftigen Polen der Teilungsfigur angesammelt wird, sprechen.

Wie bei *Allium Cepa* verkleinert auch hier der Kern sein Volumen während des Anwachsens der Polkappen (Fig. 28, Taf. XII, 35, Taf. XIII). Diese enthalten zur Zeit der Membranauflösung mehr Fäden als früher (Fig. 32, 35, Taf. XIII). Häufig sind die Chromosomenschlingen nach dem Ablauf dieses Vorgangs in der Längsrichtung orientiert (Fig. 39, Taf. II), in anderen Fällen finden komplizierte Umordnungen im Chromosomenhaufen statt, während sich die Chromosomen schnell verkürzen und verdicken. Diese Vorgänge sollen im folgenden Paragraphen geschildert werden.



Textfig. 5.
Zelle mit Kern im Spiremstadium.
Flemmingfixierung.

Literatur. Die Polkappen bei *Vicia Faba* sind von Němec (1899), Strasburger (1900) und Hottes (1901) beobachtet worden. Nach Němec (1899, S. 242), erscheint die erste Anlage der achromatischen Spindel wie ein hyalines, den Kern umgebendes, am Pole kappenförmig entwickeltes Gebilde, das er „Periplast" nennt. Němec verficht in mehreren Abhandlungen die Hypothese, daß der Nukleolus und die Spindelfasern genetisch zusammenhängen. Ebensowenig wie bei *Allium* (vgl. S. 404), habe ich an *Vicia* diese Hypothese bestätigt gefunden. Über das Verhalten der Nukleolen während der Prophase ist nicht viel über das hinaus, was wir schon vorher darüber wissen, zu sagen; es sei bemerkt, daß bei der Fixierung nicht selten abnorme Verklebungen der Chromosomen mit denselben eintreten (vgl. Fig. 17, 26, Taf. III). Vielleicht hat Gardner Blanche ähnliche Bilder gesehen, wenn er annimmt, daß die Chromosomen wenigstens zum großen Teil aus den Nukleolen stammen. Vor der Kernteilung besitzt der Kern zwei Nukleolen. Dann sähe man — nach Blanche — wie der lange, fast kontinuierliche Kernfaden an einer oder mehreren Stellen in den Nukleolus tauche. Der Nukleolus soll seine Substanz an den Kernfaden überliefern. Diese Ansichten sind nun ganz falsch. Die eventuell sichtbaren Verklebungen

sind immer abnorm, und der Nukleolus verschwindet keineswegs vor der Membranauflösung, sondern wird bei diesem Vorgang in das Plasma ausgestoßen, wo man seine Fragmente lange danach noch nachweisen kann (Fig. 38, 39, 41, Taf. XIII, 45, Taf. XIV).

Die Polkappen wurden auch von Strasburger (1900, S. 116) beobachtet. Er spricht betreffs früherer Stadien von einer Kinoplasmahülle um den Kern, was ich nicht bestätigen kann. Die Polkappen entstehen ganz simultan und besitzen anfangs eine einfache, dünne Membran (Fig. 28, unten), die später, im Zusammenhang mit der Anlage zarter Fäden in ihnen, undeutlicher wird. Die erwähnten Fäden haben hier ebensowenig wie bei *Allium* eine Funktion bei der Ortsbewegung der Chromosomen (s. § 5). Auch Hottes (1901) beschreibt „das Auftreten zarter Kinoplasmafasern an entgegengesetzten Teilen des Kerns“ im Beginn der Spindelbildung. Nach Strasburger und Hottes divergieren die Fasern in den Polkappen häufig von mehreren Punkten an der Kappenwandung (vgl. Fig. 1 bei Hottes, 1901). Nach Hottes können die Kappenanlagen im Winkel zur Längsachse der Zelle angeordnet sein (vgl. auch Němec, 1899), und sie sind auch nicht immer übereinstimmend entwickelt. „Die eine Kappe kann schon Kegelform besitzen, während die andere erst die Form einer niedrigen Kappe hat“ (vgl. meine Fig. 28, Taf. XII). Auch können sie nach Hottes bisweilen schräg zueinander orientiert sein. Was die Nukleolen anbetrifft, so gibt Hottes unrichtig an, daß sie im Spiremstadium verschwinden. Zimmermann (1893, S. 22) hat das Verhalten der Nukleolen näher untersucht. Er hat auch die Gestaltsveränderungen des Nukleolus in der Prophase beobachtet. „Im Beginn des Knäuelstadiums“ soll „der zuvor ziemlich regelmäßig kugelförmige oder elliptische Umriß des Nukleolus in eine mehr gelappte Form übergehen“. „Es war diese Erscheinung viel zu konstant, um als zufällig betrachtet werden zu können.“ Zimmermann hält es nicht für ausgeschlossen, daß diese Gestaltveränderungen Vorstadien eines Teilungsvorgangs wären. In einem weiter vorgeschrittenen Stadium des Spirems hat er zahlreiche kleine Nukleolen im Kern beobachten können. Auch sieht er ähnliche Kugeln zwischen den Chromosomen im Asterstadium. Diese Angaben Zimmermanns stimmen mit meinen eignen Beobachtungen überein, obwohl ich selten eine Zerteilung des Nukleolus vor der Membranauflösung habe beobachten können. Zimmermann hat auch die Merkelsche Flüssigkeit benutzt, die einzige, die die extranukleären Nukleolen nicht weitgehend aufzulösen scheint. Hottes glaubt nicht an extranukleare Nukleolen, sondern meint, daß die in den Präparaten beobachteten „einen nachträglichen Niederschlag gelöst gewesener Nukleolarsubstanz“ ausmachen. Meine Beobachtungen an *Allium* und *Vicia* haben jedoch das Gegen-

teil erwiesen. Daß verschiedene Forscher über diesen Punkt zu nicht übereinstimmenden Resultaten gekommen sind, schreibe ich zum Teil der auflösenden Wirkung vieler Fixierungsmittel zu, zum Teil dürften aber, wie schon Rosen erwähnt, Ernährungs- und Wachstumsbedingungen der Organe, welchen die Kerne angehören, eine Rolle spielen.

§ 3. Die Bildung der Äquatorialplatte.

Nach der Auflösung der Kernwandung beginnen die Umordnungen der Chromosomen, die zur Bildung einer Äquatorialplatte führen. Diese Umordnungsstadien können je nach dem Charakter des Spirems sehr verschiedenartig aussehen. Sind die Chromosomen lang und schleifenförmig, so werden offenbar die Umordnungen komplizierter, und der Chromosomenhaufen nimmt während des Vorganges ein verworrenes Aussehen an; sind die Chromosomen kurz und dick, so sind sie auch nicht so viel miteinander verschlungen, und die Umordnungsstadien spielen sich in einer einfacheren Weise ab.

Da der morphologische Charakter des Spirems vielfach wechselt (§ 1) und die Chromosomen sich während der Umordnungstadien fortwährend verkürzen und verdicken, werden die letzteren selbstverständlich ziemlich wechselnd. Eine nähere Beschreibung mehrerer Typen scheint mir aber hier nicht zweckmäßig zu sein.

Das Essentielle dieser Stadien dürfte in einem Entwirren des Geflechts von Schlingen bestehen, so daß die Chromosomenhälften sich in der Metaphase ohne Schwierigkeit trennen können. Diese Bestrebung führt aber nicht immer zu einem vollkommenen Resultat, indem in engen Zellen, und wenn die Chromosomen fortwährend lang sind, keine typische und regelmäßige Äquatorialplatte gebildet werden kann. Die Mechanik der Mitose ist aber so zweckmäßig eingerichtet, daß der wichtige Vorgang des Trennens der Chromosomenhälften sich auch unter solchen ungünstigen Verhältnissen in befriedigender Weise abwickeln kann.

Ein wichtiger Faktor bei dem Entwirren des Chromosomenhaufens, der nach der Membranauflösung frei in der durch die Polkappenbildung geschaffenen hellen Aushöhlung im Plasma liegt, ist das jetzt erhöhte oder beschleunigte Verkürzungs- und Verdickungsbestreben der Chromosomenschlingen. Waren die Chromosomen schon vorher kurz und dick (wie in Fig. 21, Taf. XII, 30, 33, 36, Taf. XIII), so liegen sie auch schon bei Beginn der Metaphase ziemlich zerstreut. Sind sie aber anfangs lang und verflochten (wie in Fig. 26, 27, Taf. XII), so bilden sie nach der Membranauflösung einen ziemlich dichten Knäuel (wie in Fig. 31, 32, 35, Taf. XIII), so daß sie nicht ohne weiteres in eine Äquatorialplatte umgeordnet werden können. Der Knäuel lockert sich aber wahrscheinlich schnell auf, und die Chromosomenschleifen ver-

kürzen und verdicken sich sodann. Falls die langen Chromosomen wie in Fig. 27, Taf. XII lagen, also in der Längsrichtung des Kerns gestreckt waren, sieht der Chromosomenhaufen nach der Membranauflösung wie in Fig. 39, Taf. XIII, aus. Ich kann nicht sagen, ob diese Orientierung auch seitens nicht vorher orientierter Schlingen angenommen wird. Bei *Allium Cepa* trat diese Orientierung häufiger auf.

In dem Kern in Fig. 28, Taf. XII, haben die Chromosomen eine mittlere Länge, sie liegen hier auch ziemlich zerstreut und sind größtenteils mehr oder weniger gerade gestreckt, einige sind zugleich an den Enden ösenförmig gebogen. Fast alle Schlingen liegen hier völlig frei, sie sind nicht mit ihren Enden verklebt. In anderen Fällen scheinen sie zum Teil kettenartig zusammenzuhängen (Fig. 26, Taf. XII, 31, 33, 34, Taf. XIII). Sind sie kürzer und dicker, oder nachdem sie sich verkürzt und verdickt haben, wird diese Endverklebung meistens ausgeprägter (Fig. 33, 40, Taf. XIII). Die kurzen Chromosomen scheinen eine Tendenz zu besitzen, sich aneinander zu reihen. In vielen Fällen wird wohl dies schon durch die Entstehungsweise derselben aus einem zusammenhängenden Gerüst bedingt, ich behaupte aber, daß Endverklebungen auch sekundär eintreten können. Es ist nicht ausgeschlossen, daß solche in einigen Fällen auch durch die Fixierung geschaffen werden. Ich kann aber letztere Entstehungsweise nicht für alle Fälle annehmen. Bei *Allium Cepa*, wo ich auch lebendes Material benutzen konnte, traten Endverklebungen bei guter Fixierung niemals ein.

Der Chromosomenhaufen besitzt nach der Auflösung der Kernmembran und eine Zeit nachher eine mehr oder weniger kugelige oder ellipsoidische Gestalt. Sind die Chromosomen kurz, so liegen sie häufig teilweise kettenartig nacheinander, einen lockeren Knäuel bildend (vgl. Fig. 40, Taf. XIII). Waren sie schon vor der Membranauflösung kurz, so nehmen sie auch später meistens eine ähnliche Lage ein (vgl. Fig. 21, Taf. XII, 33, Taf. XIII).

Fig. 40, Taf. XIII, ist besonders interressant, weil sie eben den Übergang vom Knäuel zur Äquatorialplatte vorführt. Die in der Figur abgebildete Zelle ist nach einem Tellyesniczkypräparat mit 12 μ Schnittdicke gezeichnet. Der Chromosomenhaufen ist daher intakt. Die 12 Chromosomen sind z. T. schleifenartig gebogen; oben in der Figur bildet eines fast ein O, links liegen drei J-förmige Chromosomen, während oben eines ösenförmig gebogen ist. Unten in der Figur hängen vier Chromosomen kettenweise zusammen und bilden einen kleinen, lockeren Knäuel. Außerdem hängen oben in der Figur zwei J-förmige und zwei andere Chromosomen zusammen. Die zwölf Chromosomen sind derartig im Raume verteilt, daß man sie in eine Sphäre einfügen könnte. Ich habe dies in der Figur durch verschiedene

Schattierung der hoch- und der tiefliegenden Teile anzugeben versucht. In der planen Zeichnung sieht man deutlich — was man hingegen nicht bei direkter Beobachtung sehen konnte — daß die Anordnung der Chromosomen eine unverkennbare Ähnlichkeit mit der typischen Äquatorialplatte verrät. Man vergleiche die nebeneinanderliegenden Fig. 40 und 41, wovon die letztere eine Äquatorialplatte darstellt (vgl. auch Textfig. 6 und 7). Die Äquatorialplatte dürfte also durch „Projizieren", Flachdrücken des Chromosomenknäuels zustandekommen, d. h. sie dürfte unter dem Einfluß von Kräften, die den Chromosomenhaufen von zwei entgegengesetzten Seiten (den Polen) her zusammendrücken, entstehen. Diese Beobachtung ist für das Verständnis der Mechanik der Äquatorialplattenbildung von großem Interesse.

Bei diesem Abplatten des Chromosomenknäuels, das natürlich etwas Zeit in Anspruch nimmt, weichen die Chromosomen augenscheinlich etwas auseinander, gleiten aneinander vorbei, denn seitliche Verklebungen sieht man niemals. Wie aus der geschilderten Entstehungsweise der Äquatorialplatte erhellt, kann die Anordnung der Chromosomen in derselben wechseln. In der Regel wird aber ihr Umriß kreisförmig oder elliptisch, wie es der Projektion einer Sphäre oder eines Ellipsoids geziemt, und häufig nimmt ihre Konfiguration, von oben gesehen, ein sternähnliches Aussehen an, indem die meisten Chromosomen durch das Zentrum gehen. Für die Entstehung einer solchen Anordnung bedarf es keiner besonderen Vororientierung der Chromosomen im Knäuel. Wie man aus den betreffenden Figuren auf Taf. XII und XIII ersieht, sind die Chromosomenschlingen entweder so lang, daß sie ein- oder zweimal den Kernraum durchkreuzen, oder sie hängen, falls sie kurz sind, kettenartig zusammen. Immer sind sie auch im Kernraum oder im Knäuel gleichmäßig verteilt. Beim Abplatten des Knäuels wird natürlich das Zentrum am dichtesten, die meisten Chromosomen laufen durch dasselbe oder strahlen von ihm aus, während ihre Enden nur selten am Zentrum liegen. Hängen sie endweise zusammen, so separieren sie auch früher an der Peripherie (vgl. Fig. 40). Die Konfiguration der Äquatorialplatte wird also mechanisch völlig verständlich, und die wechselnde Lage der Chromosomen im Knäuel verursacht ebenso wechselnde Äquatorialplattentypen. Ein Blick auf Textfig. 6 und 7, wo 26 Äquatorialplatten abgebildet sind, zeigt dies.

Dem Zusammendrücken des Knäuels zu einer Platte folgt ein Bestreben der Chromosomen, sich gerade zu strecken. Da die Chromosomen bei *Vicia* relativ sehr lang sind, haben sie in dem Plan der Platte nicht Platz genug, sie verlaufen daher meistens schräg, wie man es an Seitenansichten der Äquatorialplatte sieht (vgl. Fig. 44,

Taf. XVI). Die Bezeichnung „Äquatorialplatte" ist daher hier etwas unzutreffend, da aber der Mechanismus der Mitose auf die Bildung einer solchen hinarbeitet, wenn sie auch, wegen Mangels an Raum, in gewissen Fällen nicht in typischer Ausbildung entstehen kann, soll sie wohl beibehalten werden.

Die von uns behaupteten Vorgänge in der Metaphase lassen sich durch Beobachtung vielfach bestätigen. In Fig. 43, Taf. XIV sehen wir z. B. in Seitenansicht einen ähnlichen, obwohl späteren, Fall wie in Fig. 40, Taf. XIII. Oben in Fig. 43 liegen einige freie oder durch den Schnitt zerteilte Chromosomen, unten in derselben Figur sehen wir 5 Chromosomen, die mit ihren Enden zusammenhängen. Das in Fig. 37, Taf. XIII abgebildete Stadium können wir als einen Nachfolger der Stadien Fig. 21, Taf. XII, 36, Taf. XIII ansehen. Die auffallend kurzen Chromosomen in Fig. 37 sind unregelmäßig plaziert und wurden möglicherweise bei der Fixierung verlagert. Wenigstens beobachtet man abnorme Verklebungen und Verklumpungen derselben. Auch die kurzen Chromosomen in Fig. 38, Taf. XIII sind in ähnlicher Weise unregelmäßig angeordnet. Diese Stadien stellen offenbar Vorstadien der Äquatorialplattenbildung vor.

§ 4. Die Chromosomen.

Quersegmentierung. Wie bei *Allium Cepa* macht sich auch bei *Vicia Faba* ein Segmentierungsbestreben der Chromosomen kenntlich. Bei *Allium* konnte dessenungeachtet jedes ursprüngliche Chromosom unterschieden werden, bei *Vicia* ist dieses manchmal schwierig wegen der besprochenen Endverklebungen der Chromosomen. Diese Endverklebungen bestehen nämlich zumeist in der Metaphase fort, wie man aus Fig. 42, Taf. XIII, 43, Taf. XIV, Textfig. 6 u. 7 ersehen kann. Da die Chromosomen lang, aber von verschiedener Größe sind, macht es manchmal Schwierigkeiten zu sagen, was Endverklebung und was Segmentierung ist. Dies wirkt natürlich beeinträchtigend bei dem Zählen der Chromosomen.

Die Quersegmentierung der einzelnen Chromosomen, die wir bei *Vicia* als ein normales Phänomen betrachten müssen [1]), scheint hier ebensowenig wie bei *Allium* regelmäßig aufzutreten. Schon frühzeitig kann man in einzelnen Fällen Querspalten des Spirems beobachten (Fig. 29, 34), jedoch scheinen sie eigentlich zuerst nach der Ausbildung der Chromosomen angelegt zu werden, jedenfalls gibt es keine Belege für eine Zerstückelung derselben schon bei ihrer Anlage. In der Metaphase erblickt man ziemlich häufig Querspalten in den Chromosomen, die zu vollständigem Abtrennen der Segmente führen können.

[1]) Hierüber gilt dasselbe, das wir schon S. 395 auseinandersetzten.

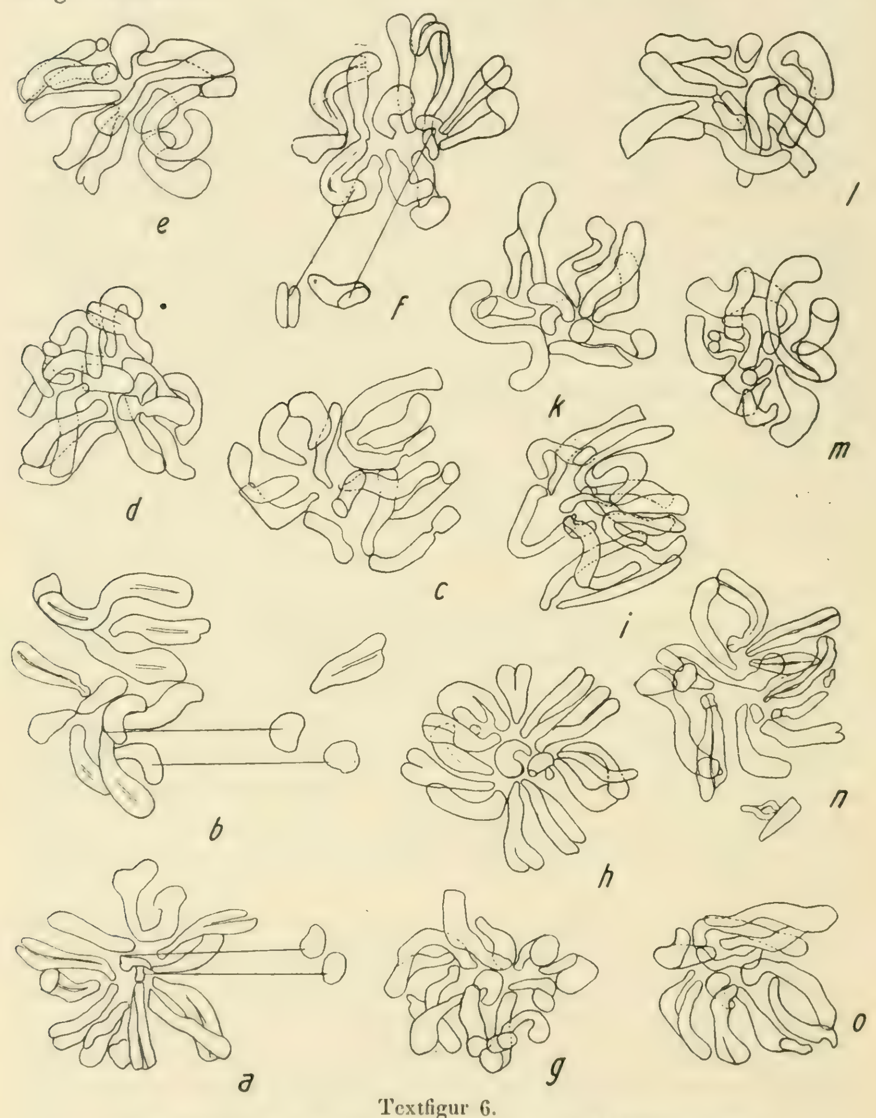
Die Chromosomen werden bei *Vicia* im allgemeinen nicht wie bei *Allium* in zwei etwa gleich große Hälften zerlegt, sondern meistens findet ein Abtrennen kleinerer Stücke statt (Fig. 43, 44, 50, 51, Taf. XIV, Textfigur 6a, c, d, e, h, n, 7u). Über die Präformation dieser Querspalten und über ihr verschiedenes Hervortreten bei verschiedenartiger Fixierung und Färbung gilt hier dasselbe, was wir über die entsprechenden Verhältnisse bei *Allium* auseinandersetzten (S. 396). Bemerkenswert ist, daß die Querspalten sich immer über die beiden Hälften der Chromosomen erstrecken (Fig. 43, 44, 50, 51, Taf. XIV). Bei normaler Färbung habe ich keine Querspalten beobachtet, die nur in einer Chromosomenhälfte angelegt waren. Bei besonders starker Differenzierung bekommen aber hier wie bei *Allium* (S. 396) die Chromosomen ein unregelmäßiges Aussehen; sie erscheinen aus Körnchen oder Stäbchen zusammengesetzt (Fig 31, 32, 42, Taf. XIII), oder besitzen wenigstens eine sehr rauhe oder wellige Oberfläche (Fig. 44, Taf. XIV), so daß Spalten an beliebigen Stellen vorgetäuscht werden können. Bei *Vicia* kann man die Chromosomen nicht im Leben beobachten (vgl. 1912b, S. 261), es gibt aber keinen Anlaß, einen andersartigen Aufbau derselben wie bei *Allium* anzunehmen, da sie sich bei verschiedenartiger Fixierung und Färbung genau so wie die *Allium*-Chromosomen verhalten. Wir haben demgemäß die unregelmäßige Struktur der *Vicia*-Chromosomen, wie sie in Fig. 42, Taf. XIII, 44, Taf. XIV erscheint, für ein Artefakt zu halten.

Die Längsspaltung der Chromosomen wird in der Metaphase meistens sehr deutlich, sie kann aber auch hier wie bei *Allium* bei gewisser Präparation verdeckt werden (vgl. Fig. 38, Taf. XIII, die nach einem in S.-G.-O. gefärbten Merkelpräparat gezeichnet ist). Die Längshälften der Chromosomen sind bisweilen umeinander gedreht (Fig. 46, Taf. XIV).

Fixierung. Die Metaphase-Chromosomen werden allgemein in Flemming, Hermann und Merkel gut fixiert. Differenzen kommen jedoch betreffs der Erhaltung der Längsspaltung vor. Nach Merkelfixierung wird diese z. B. häufig undeutlich. Meistens dürften jedoch Färbungsverhältnisse hier mit hineinspielen. Eine verschiedenartige (artifizielle oder wenigstens unzuverlässige) feinere Struktur der Chromosomen kann auch nach verschiedenartiger Fixierung beobachtet werden.

In Sublimatessig (Kaiser) werden die Chromosomen dick und kräftig, nicht selten zugleich verklebt und verklumpt. Zenker und Tellyesniczky (Fig. 47, 50, 51, Taf. XIV) fixieren die Chromosomen besser. Nach Behandlung mit diesen Flüssigkeiten, sowie mit Kaiser bekommt man aber häufiger Kleinsegmentierung der Chromosomen als z. B. nach Flemmingfixierung zu sehen. In gewissen Fällen, wie

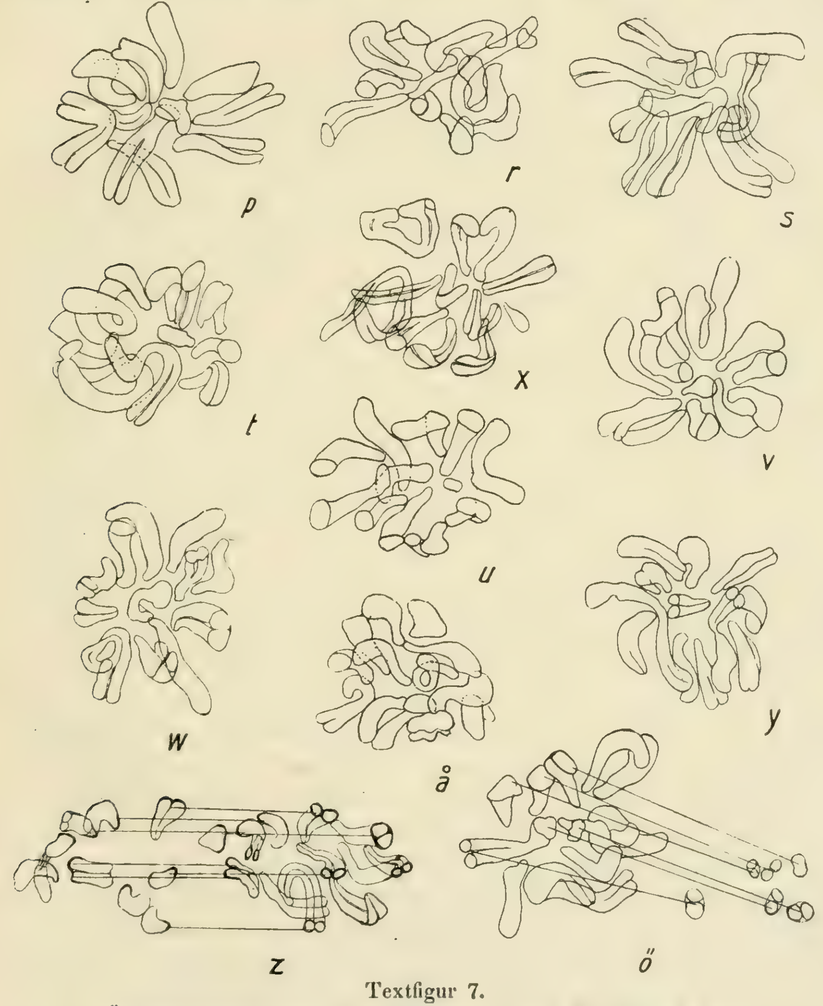
in Fig. 50, Taf. XIV scheint es, als wären die Segmente auf artifiziellem Wege entstanden.



Textfigur 6.
Äquatorialplatten von Vicia Faba aus einem Merkelpräparat.

Chromosomenzahl. An Polansichten der Äquatorialplatten können die Chromosomen gezählt werden. Die meisten Zählungen habe ich an einem in S.-G.-O. gefärbten Merkelpräparat vorgenommen, das etwa 75 14 μ dicke Querschnitte durch die Wurzelspitze enthielt. Alle Äquatorialplatten, die sich für das Zählen geeignet erwiesen, wurden genau abgebildet. Im ganzen konnten Zählungen an etwa

30 Äquatorialplatten mit einigermaßen großer Sicherheit ausgeführt werden, und 26 dieser Platten sind in Textfigur 6 u. 7 zusammengestellt. Wie man schon beim ersten Blick auf diese Figuren sieht, sind die Platten nur selten so beschaffen, daß Zählungen ohne Mühe und Bedenken vorgenommen werden können. Meistens nehmen die teilweise sehr langen Chromosomen eine solche Lage ein, daß sie einander mehr oder weniger verdecken oder nicht in einem Schnitt



Textfigur 7.
Äquatorialplatten von Vicia Faba aus einem Merkelpräparat.

Platz finden[1]). Dazu kommen die oben erwähnten Endverklebungen und Segmentierungen. Werden aber alle diese Verhältnisse, die die

[1]) Dickere Schnitte als 14 μ können kaum in Bändern zusammenhängend erhalten werden. Auch ist es sehr schwierig, dicke Schnitte gut zu färben.

Resultate zweifelhaft machen können, mit in Rechnung gezogen, so deuten die gemachten Zählungen doch unzeifelhaft darauf hin, daß die Chromosomenzahl bei *Vicia Faba* nicht völlig konstant ist. Meistens findet man 12 Chromosomen. Diese Zahl haben die Chromosomen unzweifelhaft in Fig. 40, Taf. XIV. Sehr schöne Äquatorialplatten, in denen die Chromosomen so frei liegen, daß kein Zweifel über die rechte Zahl möglich ist, sehen wir in Textfig. 6g, m, n; 7p, u, v, w, x und y, also in etwa 35% der Fälle. Ziemlich unzweifelhaft ist auch die Zahl 12 in Textfig. 6i. In diesen Platten lagen entweder alle Chromosomen ganz frei, oder sie waren ausnahmsweise verklebt, aber in einem so unbedeutenden Grade, daß ich keinen Zweifel über den wahren Sachverhalt hegen konnte. Seltener gelang es mir aber, eine andere Zahl als 12 ganz unzweifelhaft festzustellen. Die in Textfig. 7t abgebildete Äquatorialplatte besteht aber ganz deutlich aus nur 11 Chromosomen. Ebenso unzweifelhaft setzt sich die Äquatorialplatte in 6h aus 13 Elementen zusammen. Ein Chromosom in dieser Platte ist außerdem durch eine Querspalte in zwei Stücke zerfallen. 13 Chromosomen finden wir auch in 6c. Hier hängen freilich zwei Paare endweise zusammen, sie sind aber ebenso deutlich voneinander zu unterscheiden wie die Chromosomen in 7v, wo 12 Chromosomen vorhanden sind. Sodann kommen die zahlreichen Fälle, in denen es schwierig ist — wegen Segmentation oder Endverklebung der Chromosomen — die Zahl exakt zu bestimmen. In 6a finden wir sogleich 11 Chromosomen, dazu kommen aber diejenigen, die mit den Enden mit zwei von ihnen verklebt sind und welche z. T. in einem folgenden Schnitt lagen[1]). Will man diese für selbständige Chromosomen halten, so bekommt man die Zahl 13, jedenfalls wird die Normalzahl 12 nicht eingehalten. Ebenso ist es in 6b. Hier entdeckt man aber nur 10 Chromosomen, wovon eines vielleicht aus zwei endverklebten zusammengesetzt wird. Mustern wir die Äquatorialplatten in Textfig. 6 u. 7 weiter durch, so finden wir in 6d 11 sichere und 2 zweifelhafte Chromosomen, in 6e 11 sichere und 1 zweifelhaftes. Die entsprechenden Zahlen sind in 6f 11 und 2, in 6l 10 und 2, in 6o 11 und 1, in 7r 12 und 1, in 7z 13 und 2, in 7å 12 und 2, in 7ö 12 und 1.

Wir sehen somit, daß auch, wenn man Endverklebungen und Segmentationen mit in Rechnung zieht, man sicher konstatieren kann, daß die Chromosomenzahl bei *Vicia* nicht völlig konstant ist. Die „Normalzahl“ scheint 12 zu sein, weil sie in etwa 35% der Fälle unzweifelhaft auftritt, während in anderen Fällen die Zahl 11, 13 und bisweilen sogar etwas höher ausfällt. Bei den Zählungen wurden

[1]) Es sei hier bemerkt, daß es bei allen Platten untersucht wurde, ob sie nur in einem oder in zwei oder drei Schnitten verteilt waren.

Chromosomenteile, die augenscheinlich demselben Spiremchromosom entstammten, nicht mitgenommen (vgl. z. B. Textfig. 6a, n; 7u, v). Über die theoretische Bedeutung der Befunde will ich mich erst in einer folgenden Studie aussprechen. Hier sei nur gesagt, daß die nicht völlig konstante Chromosomenzahl von keiner Bedeutung bei den Vorgängen in den Meta- und Anaphasen oder überhaupt bei der vegetativen Teilung ist, denn von jedem Segment wandern die Hälften nach verschiedenen Polen. Betreffs der Ursachen der inkonstanten Chromosomenzahl bei *Vicia Faba* kann durch direkte morphologische Beobachtungen kein sicheres Resultat erzielt werden. Es scheint mir aber bemerkenswert zu sein, daß nur in wenigen Fällen eine Zahl (11) gefunden wurde, die unter der Normalzahl liegt. Dies deutet auf Segmentierungen als einen wichtigen Faktor bei der Entstehung überzähliger Chromosomen hin, obwohl man auch andere, wenig bekannte Ursachen annehmen muß. Wären die Chromosomen kürzer und hätten sie eine bestimmte Orientierung im Verhältnis zu der Teilungsachse oder dem Äquatorialplan, so ließen sich wohl durch Messung der Längen bestimmtere Aufschlüsse über die Herkunft der einzelnen Chromosomen erzielen. Bei der unregelmäßigen Lage der z. T. sehr langen und in verschiedenen Gestalten gebogenen Schlingen bleibt aber ein solches Unternehmen fruchtlos. Daß die inkonstante Zahl schon im Spiremstadium auftritt, wird durch die vorher gemachten Zählungen (S. 307; Fig. 26—28, Taf. XII) wahrscheinlich gemacht.

Gestalt und Anordnung. In Polansicht erscheinen die langen Chromosomen nicht völlig gleich dick. Sie sind dünner in der Mitte und schwellen bei den Enden etwas an (Fig. 41, Taf. XIII, Textfig. 7x). Von der Seite betrachtet erscheinen sie aber meistens gleich dick (Fig. 41, Taf. XIII; 43, 44, 45, 46, 48, Taf. XIV). Vielleicht beruhen die wechselnden Gestalten auf veränderlicher Spaltweite und der Drehung der Hälften umeinander.

Am Schluß der Metaphase ist die Anordnung der Chromosomen augenscheinlich keine besonders regelmäßige. Nicht selten sieht man Chromosomenketten wie in Fig. 42, Taf. XIII, worin alle Chromosomen nach einem Pole gerichtet sind (vgl. auch Fig. 43, Taf. XIV). Die langen Chromosomen liegen jedoch meistens wie in Fig. 44, Taf. IV.

Eine Paarung der Chromosomen kann hier ebensowenig wie bei *Allium Cepa* entdeckt werden (vgl. Textfig. 6 u. 7, wo alle Platten genau mit der Kamera gezeichnet wurden). In einzelnen Fällen kann wohl eine Paarung dadurch vorgetäuscht werden, daß zwei Chromosomen endweise zusammenhängen oder kurz vorher verklebt waren (zahlreiche Beispiele in Textfig. 6 und 7). Aber auch in diesen Fällen liegen sie selten in derselben Ebene.

§ 5. Spindelbildung. Spindelfasern.

Betreffs der Entwicklung von Struktureigentümlichkeiten im Plasma, die die beschriebenen Veränderungen im Kern begleiten, ist hier nicht viel über das hinaus, was wir bei *Allium* erwähnten, hinzuzufügen. Bei dem Zeitpunkt der Auflösung der Kernmembran liegt der Chromosomenhaufen entweder in einer hellen Aushöhlung, die von Fäden durchzogen wird (Fig. 35—37, Taf. XIII), oder das umgebende Plasma dringt zwischen die Chromosomen ein (Fig. 38, Taf. XIII). Die helle Aushöhlung, die der Polkappenbildung entstammt (Fig. 36), ist anfangs durch eine Faserschicht von dem umgebenden Plasma abgegrenzt (Fig. 35—36). Bisweilen ist die Begrenzung sogar membranartig (Fig. 37). Später wird diese Begrenzung unschärfer, während mehr Fäden den Inhalt durchsetzen. Überhaupt spielen sich diese Vorgänge in ein und derselben Weise bei *Allium* wie *Vicia* ab. Typische „Spindelfiguren“ sieht man bei *Vicia* im allgemeinen häufiger als bei *Allium*. Zu bemerken ist hierbei, daß das Plasma bei *Vicia* durchgehends schlechter konserviert wird wie bei *Allium*. Die Spindeln können genetisch aus der Polkappenbildung hergeleitet werden, wie man durch einen Vergleich der Fig. 28, Taf. XII; 32, 35, 36, Taf. XIII; 52, Taf. XIV sieht. Die äußere Begrenzung der Spindel ist aber niemals membranartig. Bisweilen sind die Spindelpole spitzig ausgezogen (Fig. 52, Taf. IV). Die meisten Spindelfäden verlaufen zwischen den Spindelenden, andere zwischen diesen und den Chromosomen, während einige in dem umgebenden Plasma endigen. Diese sind mit Körnchen besetzt. Häufig werden keine spitzigen Spindelpole formiert, oder die Fäden laufen auch in mehreren Punkten zusammen (Fig. 43, 49, Taf. XIV). Nicht selten sieht man bei diesen Punkten kleine Körner (Fig. 49). Nähere oder gesetzmäßige Beziehungen zwischen den Spindelfasern und den Chromosomen lassen sich nicht feststellen, wie man aus den Figuren sieht. Man vergleiche hierzu die betreffenden Auseinandersetzungen in Kap. I, § 3. Häufig sieht man auch bei *Vicia* keine Spindelfigur, sondern die Chromosomen liegen in hellen Aushöhlungen im Plasma, die von Fäden durchzogen sein können (Fig. 48, Taf. XIV), oder sie liegen auch direkt im Plasma (Fig. 41, Taf. XIII; 44, 45, Taf. XIV). In Fällen, wie in Fig. 48, Taf. XIV, kann man Doppelchromosomen wie in Fig. 47 beobachten. Diese Figur gibt einen Aufschluß über die Art des Auseinandergehens der Chromosomenhälften, sie kann aber nicht als Beweis für die Zugfasertheorie angeführt werden.

Daß die Nukleolen nach dem Austreten aus dem Kern bei der Membranauflösung nicht sofort aufgelöst werden, sieht man aus den Fig. 38, 41, Taf. XIII; 45, Taf. XIV, die nach Merkelpräparaten gezeichnet sind. Die tropfenähnlichen Nukleolenfragmente liegen teils

zwischen den Chromosomen, teils sind sie im Plasma zerstreut. In S.-G.-O. werden sie rot gefärbt, während die Chromosomen einen mehr violetten Farbenton annehmen. In den übrigen Fixierungsflüssigkeiten werden diese extranuklearen Nukleolen wahrscheinlich aufgelöst (vgl. S. 401).

§ 6. Anaphase.

Die Hälften jedes Chromosoms gehen auseinander (Fig. 44, 47, 48, 51, Taf. XIV), wobei sich meistens die Spalte allmählich erweitert, nicht erst partielle Öffnungen zwischen den Hälften entstehen. Fig. 47 ist einem Tellyesniczky-Präparat entnommen. Es ist nicht unmöglich, daß solche lokalisierte Spalterweiterungen Artefakte sind. Jedenfalls hat die Morphologie des Trennungsvorgangs keine prinzipielle Bedeutung, die verschiedenen Gestalten der auseinanderweichenden Chromosomen spiegeln nur die für den Augenblick herrschenden mechanischen Konstellationen ab. Da die *Vicia*-Chromosomen lang sind, bekommen die Anfangsstadien der Anaphase ein charakteristisches Aussehen, indem sich die Chromosomen schlängeln und umeinander schlingen (Fig. 52, XIV). Wie man aus dieser Figur sieht, sind auch die *Vicia*-Chromosomen — wenigstens in diesem Falle — mit einer Hülle von kleinen Körnchen oder Schüppchen versehen (vgl. S. 401).

Die auseinanderweichenden Chromosomen nehmen später häufig eine sehr regelmäßige V-Form an (Fig. 54, Taf. XIV), so daß die beiden Tochterchromosomenhaufen einen ziemlich regelmäßigen Bau erhalten (Fig. 55, 56). Wie man aus Fig. 53 sieht, werden jedoch einige Chromosomen in ihrer Wanderung etwas verspätet, während andere polwärts aus dem Haufen hinausragen. Die Tochterchromosomen schließen sich ziemlich dicht zusammen, ohne jedoch auch nur teilweise zu verschmelzen.

Die neugebildeten Tochterkerne besitzen einen anfangs unregelmäßigen Umriß (Fig. 57, Taf. XIV), sie werden jedoch früher als bei *Allium Cepa* abgerundet. Zwischen ihnen sieht man den Phragmoplasten (Fig. 57).

In den Tochterchromosomen findet man manchmal Querspalten. Besonders deutlich tritt die Segmentation der Chromosomen in dem eben erwähnten alten Flemming-Safranin-Präparat hervor (vgl. Fig 55, Taf. XIV).

Auch in der Anaphase sieht man zumeist keine „Spindelfigur". Man beachte z. B. die in Fig. 53, Taf. XIV abgebildete Zelle, wo nur einige dünne Fäden zwischen den Chromosomenhaufen zu sehen sind (vgl. auch Fig. 54). Besonders in mangelhaft konservierten Zellen kann man aber zahlreiche Fäden zwischen den Tochterhaufen erblicken. Im großen ganzen herrschen hier ähnliche Verhältnisse, wie vorher bei *Allium* geschildert wurde (Kap. I, § 8).

Die Chromosomen, die leidlich gut auch in Sublimat- und Chromsäuregemischen konserviert werden, scheinen sich nicht alle auf einmal zu separieren. Besonders in Kaiser, aber auch in Zenker und Tellyesniczky, sieht man nicht selten bei dem Auseinanderweichen derselben, daß sie mit ihren Enden zusammenhängen, so daß]-förmige Figuren entstehen. Vielleicht hat man es hier mit Kunstprodukten zu tun. Da die betreffenden Vorgänge sich im Leben relativ schnell abspielen, können wohl dergleichen Artefakte auch bei nicht momentaner Tötung oder Erstarrung der Kernteilungsfiguren entstehen.

B. Allgemeiner Teil. Besprechung der Literatur und theoretische Fragen.

Kapitel 3. Die Chromosomen.

§ 1. Bemerkungen über die Eigenschaften der jungen Chromosomen.

Ein Punkt, auf den wir hier besonders aufmerksam machen wollen, ist der, daß die Längsspaltung der Chromosomen, die, wie man jetzt weiß, sehr früh angelegt ist (1912c), durch die ganze Prophase ihre Kontinuität erhält. Wir haben in der speziellen Darstellung nachgewiesen, daß die Unsichtbarkeit derselben, die man in gewissen Fällen nicht leugnen kann, ausschließlich auf Färbungs- und Fixierungsverhältnisse zurückzuführen ist. Und daß die Färbung und Fixierung hier häufiger als manchmal in früheren Stadien versagen, scheint darauf zu beruhen, daß sich die Spalthälften in späteren Stadien einander nähern oder daß sie von einer farbeabsorbierenden Hülle umgeben werden. Offenbar hängen viele Angaben in der Literatur über eine erst in dem dicken Spirem eintretende Längsspaltung mit den angedeuteten Verhältnissen zusammen. Sogar in der Metaphase kann der dualistische Bau der Chromosomen wegen nicht ganz tadelloser Fixierung und Färbung undeutlich hervortreten.

Ein anderer hier hervorzuhebender Punkt betrifft das Freiliegen der jungen Chromosomen. Das Spirem ist diskontinuierlich, und die langen Schlingen haben dieselbe Zahl wie die Chromosomen. Das konnten wir an *Allium* und *Vicia* feststellen. Bei dem Studium der frühen prophasischen Stadien (1912c) stellte es sich als wahrscheinlich heraus, daß die Chromosomen auch hier als relativ selbständige Bildungen figurieren. Der Grund, weshalb die Chromosomen als relativ selbständige Bildungen von relativ oder absolut konstanter Zahl auftreten (vgl. § 3), muß daher in der Organisation des Kerns und des Karyotins gesucht werden.

§ 2. Die Orientierung der Chromosomen innerhalb der Kernwandung.

Die älteren Angaben über die Lage der Spiremschlingen beziehen sich nur auf die gleichmäßige Verteilung und den häufig parallelen Verlauf derselben.

Strasburger (1880, S. 323) erwähnt, daß die Kernfäden „namentlich in runden Zellkernen annähernd gleichmäßig durch den ganzen Kernraum verteilt" sind. „In langgezogenen Zellen folgen sie mehr oder weniger der Längsachse". Flemming (1882, S. 201) bemerkt, daß es keine formalen oder sonstigen Beziehungen zwischen der dizentrischen Anordnung im Plasma und der Lage der Kernfäden gibt. Retzius (1881, S. 115 und Fig. 3, Taf. XII)[1]) äußert sich über die Orientierung der Spiremschlingen folgendermaßen: „Wie Flemming hervorhebt, ziehen die Schlingen, obwohl in gewundenem Verlauf, größtenteils und in der Regel quer über den Kern, also ziemlich senkrecht gegen seine Längsachse". Heuser (1884) hat gesehen, wie „die kurzen, vielfach hin und her gebogenen Windungen sich von Innen des Kerns aus gegen seine Peripherie annähernd parallel zueinander und zur kurzen Achse des Kerns umordnen".

Wir haben diese Angaben zitiert, um zu zeigen, wie verschiedenartig die Orientierungsfrage von den früheren Verfassern aufgefaßt wurde. Seit dem Erscheinen der Arbeit Rabls (1885) richtete man vornehmlich die Aufmerksamkeit auf die Orientierung der Schlingen in bezug aufeinander. Rabls Entdeckung ist zu allgemein bekannt, als daß ich seine Worte hier zu zitieren brauchte. Rabl unterschied bekanntlich eine „Polseite" und eine „Gegenpolseite" des Kerns, und zwischen diesen Seiten waren die U- oder J-förmigen Fäden gestreckt.

Rabls Beobachtungen sind ohne Zweifel richtig, und sie sind ja sehr häufig bestätigt worden. Jedoch handelt es sich hier nicht um eine in allen Fällen vorhandene Orientierung. Das haben auch unsere speziellen Untersuchungen gezeigt.

Die Rablsche Orientierung der Chromosomenschlingen hat in der theoretischen Literatur eine große Rolle gespielt. Man hat ja in der Telophase eine ähnliche Lage der Chromosomen gefunden, und in dieser Übereinstimmung zwischen telophasischem und prophasischem Spirem wurde ein Beweis für die Individualität der Chromosomen erblickt. Obwohl wir hier nicht auf die Theorie der Chromosomenindividualität näher eingehen können, wollen wir aber dieses angebliche Argument etwas betrachten.

Gesetzt den Fall, daß die Chromosomen in der Prophase in derselben Lage zum Vorschein kommen, wie wir sie in der Telophase

[1]) Auch Flemming bildet 1882, Fig. 32, 34, Taf. IIIa ähnliche Kerne ab, ohne sie jedoch im Text besonders zu erwähnen.

hatten — ein solcher Fall scheint wirklich bei *Ascaris* vorzukommen (Boveri 1909a) — so braucht dies keineswegs zu bedeuten, daß die Chromosomen immer in ähnlicher Weise in irgend einer Form in der Interphase persistieren. Der Fall beweist nur, daß bei kurzen Interphasen oder in gewissen Fällen die Chromosomensubstanz so beharrlich ist, daß sie lange an derselben Stelle verbleibt, daß sie mit anderen Worten sehr wenig diffusibel ist. Wie sie sich bei langen Interphasen verhält, wissen wir nicht. So weit über die theoretische Bedeutung der übereinstimmenden Orientierung in Prophase und Telophase.

Eine andere Frage ist es, ob eine solche Übereinstimmung in allen denjenigen Fällen herrscht, wo man sie als erwiesen betrachtet hat. Am sichersten ist wohl die Übereinstimmung bei den namentlich von Boveri untersuchten *Ascaris*-Kernen. Wenn es sich aber um Gewebe handelt, ist es zumeist sehr schwierig, zu sagen, in welcher Richtung eine vorhergehende Teilung vor sich ging. Ferner gibt es viele Fälle, wo gar keine Rablsche Orientierung in der Prophase vorhanden ist, obwohl die Kernfäden in den ersten Stadien der Telophase in der Regel einen Verlauf parallel der Teilungsachse haben. Allerdings kommen auch hier Ausnahmen vor, und während des späteren Wachstums des Kerns und der in ihm stattfindenden Rekonstruktionsprozesse wird die gegenseitige Lage und die Gestalt der sich auflösenden Chromosomenbänder vielfach in unberechenbarer Weise verändert. Diese Fälle mit unregelmäßiger oder allmählich gestörter Orientierung in der Telophase könnten freilich mit den Fällen in Verbindung gebracht werden, wo in der Prophase die Schlingen einen regellosen Verlauf haben — und tatsächlich verwertet Grégoire (1903) seine Entdeckung, daß in *Trillium* die Chromosomen weder in der Telophase noch in der Prophase eine Orientierung aufweisen, in ähnlicher Weise wie Boveri und Rabl es bei ihren Fällen getan haben. Als Moment, das auf eine Erhaltung der telophasischen Orientierung störend wirken könnte, ist außer dem schon Erwähnten noch auf das dauernde Wachstum des Kerns in der Prophase hinzuweisen. Ferner können sekundär entstandene oder schon durch die Entstehungsweise der Chromosomen bedingte Endverklebungen derselben eine überlieferte Orientierung nachträglich zerstören. Wir können jedenfalls die Tatsache, daß in günstigen Fällen eine genetische Beziehung zwischen Prophaseorientierung und Telophaseorientierung der Chromosomen herrscht, nicht leugnen, obwohl wir nicht wissen, wie weit verbreitet eine solche Erscheinung ist. Aber wenn sie auftritt, so kann dies nicht als Beweis für die Individualität der Chromosomen im allgemeinen sprechen. Es beweist — wie schon erwähnt — nur, daß die aufgelöste Chromosomensubstanz wegen be-

harrlicher Konsistenz und geringer Diffusibilität eine gewisse Zeit eben an der Stelle des Kerns verbleibt, wo die Auflösung bzw. Vakuolisierung und Aufblähung des Chromosoms stattfand. In einem solchen Ruhe- oder richtiger Interphasekern (denn das Phänomen wurde nur in schnell wachsenden Geweben oder Zellen beobachtet) würden also die Chromosomen als aneinander grenzende Bezirke von morphologisch nicht deutlich unterscheidbarer Substanz überdauern — etwa in der Weise wie sich Rabl und Boveri die Sache vorstellen. Aber dieses Überdauern ist physikalisch erklärbar (denn warum sollten nicht die neuen Chromosomen die schon vorhandene Substanz, die schon umgrenzten Bezirke benutzen?), ohne daß man eine durchgehende morphologische und physiologische Selbständigkeit der Chromosomen annehmen müßte.

Unsere Erfahrung ist folglich durch Rabls, Boveris und anderer Entdeckungen dahin bereichert worden, daß bei Interphase von nicht zu langer Dauer die Chromosomensubstanz infolge ihrer allgemeinen physikalischen Eigenschaften auch nach der morphologischen (und z. T. chemischen) Auflösung die durch die Zahl und Orientierung der in dem neuen Kern befindlichen Tochterchromosomen bedingte Lokalisation nicht aufgeben. Wie lange die Lokalisation erhalten wird, wissen wir nicht. Wir haben aber mehrere Umstände erwähnt, die sie zu zerstören versuchen, und es ist wahrscheinlich, daß bei längeren Interphasen die Orientierung der Telophasechromosomen verloren geht. Allerdings fanden wir auch bei langsamer Teilung die Rablsche Orientierung in den Prophasekernen. Aber ist es nun sicher, daß eben diese so häufig beobachtete Orientierung nicht zugleich oder ausschließlich aus den inneren Bedingungen in dem Prophasekern entspringt? Wir können diese Frage nicht beantworten. Sie würde sehr eingehender, vergleichender Untersuchungen bedürfen.

Daß die Chromosomen in dem Kern immer harmonisch verteilt sind, d. h. nicht etwa eine einseitige Lage einnehmen, läßt sich wohl aus den Symmetrieverhältnissen verstehen; allerdings stehen wir vor einer kausalen Erklärung einer eventuell spontanen Annahme einer bestimmten Orientierung ziemlich machtlos. Eine „erbliche Polarität" des Kerns sind wir jedenfalls nicht berechtigt anzunehmen. Tatsächlich scheint schon ein so einfaches Verhältnis wie die Gestalt des Kerns einigen Einfluß auf die Lage der Spiremfäden zu haben (vgl. oben und S. 383), und die Gestalt des Kerns wird ja von dem Plasma beeinflußt. Wenn Zentrosomen vorhanden sind, pflegen diese die Lage der Chromosomenschlingen in gewissen Fällen zu bestimmen; das Zentrosom liegt zumeist in einer Einbuchtung des Kerns; nach Rabl, Retzius u. a. war die „Polseite" des Kerns im allgemeinen mehr abgeflacht als die „Gegenpolseite". Dies kann wohl aber auch

mit einer erhaltenen Telophasegestalt der Kerne zusammenhängen, denn auch bei Pflanzen wurden nierenförmige Kerne beobachtet (Strasburger 1888, Guignard 1885). Im Innern des Kerns müssen wohl die allgemeinen physikalischen und chemischen Bedingungen zusammen mit den speziellen Zahl- und Längeverhältnissen der Chromosomen auch ohne äußere oder überlieferte Beeinflussungen auf eine gewisse gegenseitige Lage derselben hinarbeiten. Allerdings ist es schwierig zu verstehen, warum in gewissen Fällen eine ausgesprochene Orientierung, in anderen Fällen eine völlige Regellosigkeit herrscht. Wir stehen somit, wie man sieht, vor mehr als einer Frage. Und ehe noch spezielle, eingehende Untersuchungen angestellt sind, kann man sich an die Wahrscheinlichkeit des genetischen Zusammenhangs zwischen Telophase- und Prophaseorientierung halten.

§ 3. Zahl und Gestalt der Metaphasechromosomen.

Tatsachen über die Chromosomenzahl. Rabl-Boveris Zahlengesetz. Eine mophologische Regel der Chromosomenzahl.

Unter den ersten Forschern, die Zählungen der Metaphasechromosomen vornahmen, waren Flemming, Strasburger und Retzius.

Flemming (1882 S. 210) fand in 3 Fällen von 4 24 Schleifen in Epithelzellen von Salamander. Er bemerkt aber, daß er das zeitraubende Suchen behufs des Zählens aufgegeben hat, weil er von vornherein sah, „daß es sich um ein ganz durchgehendes Zahlengesetz“ nicht handelte. Er meint damit wohl vornehmlich, daß die Schleifenzahl bei verschiedenen Pflanzen- und Tierarten verschieden ist, allein er hat wohl auch an eine Inkonstanz der Zahl bei verschiedenen Elementarorganen geglaubt und wurde, wie es scheint, zu diesem unrichtigen Schluß durch die Beobachtung der bedeutend niedrigeren Zahlen in Hodenepithelien geleitet (1882 S. 211). Erst 5 Jahre später, als Flemming diese einer erneueten Untersuchung unterwarf, kam er zu einer richtigeren Auffassung dieser eigentümlichen Verhältnisse (s. unten).

Auch Retzius (1881 a S. 109) schien die Chromosomenzahl nicht konstant zu sein. Er zählte in Triton 10—16 Schleifen.

Strasburger (1882, 1884) äußert sich nicht über die Konstanz der Zahl der Chromosomen. Er zählte sie aber in einer Anzahl Pflanzen (meistens in den Sporenmutterzellen und Pollenmutterzellen).

Genauere Zählungen wurden von C. Rabl (1885 S. 248, 250) vorgenommen. Er fand in Übereinstimmung mit Flemming in Epithel- und Bindegewebezellen von Salamanderlarven die konstante Zahl 24. Er behauptet, daß „für jede Zellenart ein ganz bestimmtes Zahlengesetz existiert“, vermutet aber zugleich unrichtigerweise, daß

die Anzahl der Schleifen von der Karyotinmenge abhängt. Auch Rabl hat die geringere Zahl der Schleifen in Hodenepithelien beobachtet, er findet aber hier 16 Chromosomen.

Flemming (1887) trat 1887 für Rabls Zahlengesetz ein. Er macht auch in derselben Arbeit die epochemachende Entdeckung des „Dimorphismus der Mitose bei den Spermatozyten“ und daß hier eine Reduktion der Chromosomenzahl ausgeführt wird.

Das „Gesetz der Zahlenkonstanz“ wurde namentlich von Boveri (1887, 1888) weiter ausgebaut und näher formuliert. Er sprach den Satz so aus, „daß die Zahl der aus einem ruhenden Kern hervorgehenden chromatischen Elemente direkt und ausschließlich davon abhängig ist, aus wie vielen Elementen dieser Kern sich aufgebaut hat“ (Boveri 1888 S. 175). Und dieser Satz wurde eine Grundsäule der von demselben Forscher 1887 aufgestellte „Individualitätshypothese“.

Von anderer Seite wurde aber die Gültigkeit dieses Gesetzes bestritten, und jedenfalls finden sich viele Tatsachen, die wenigstens eine Beschränkung seiner Gültigkeit fordern.

Strasburger (1888 S. 175) konnte nicht für eine volle Konstanz der Segmentenzahl in vegetativen Geweben der Pflanzen eintreten. 1905 (S. 9, 28) führte er auch Belege hierfür an (*Galtonia*). Auch die vegetative Chromosomenzahl von *Wikstroemia indica* soll nicht konstant sein (Strasburger 1909). Dagegen erklärt sich die abnorme Zahl der Chromosomen in dem unteren Kern der Embryosackanlage von *Lilium*, die schon von Guignard, Sargent und Mottier beobachtet wurde, nach Strasburger (1909) in der Weise, daß einzelne Chromosomen eine doppelte Längsspaltung erfahren.

Bei Hyacinthus fand Rosen (1894) 24 Chromosomen, es schien ihm aber sehr zweifelhaft, ob die Kerne der Gefäßzellen gleichfalls 24 Chromosomen besitzen. van Wisselingh fand im Embryosackbelag und im jungen Endosperm von *Lilium* 50 bis 60 Chromosomen, im Nucellargewebe deren 24. Farmer und Shove (1905) haben über schwankende Chromosomenzahlen in den somatischen Zellen von *Tradescantia* berichtet. Noch zahlreiche Angaben über eine inkonstante Chromosomenzahl ließen sich verzeichnen, ich verzichte hier aber um so eher auf eine ausführliche Zusammenstellung, als neuerdings eine solche, namentlich über die zoologische Literatur, von P. della Valle (1909) gemacht worden ist.

Unsere eigenen Untersuchungen (Kap. IV) haben zu dem Ergebnis geführt, daß die Chromosomenzahl bei *Allium*, wenn man von den Segmentationen absieht, völlig konstant ist, während sie unter derselben Vorbedingung bei *Vicia Faba* als etwas schwankend betrachtet werden muß.

Über die Faktoren, die einerseits die auffallende Konstanz, anderer-

seits die Variation der Chromosomenzahl bedingen, lassen sich einstweilen keine genaueren Angaben machen. In einer anderen Arbeit werde ich auf die allgemeinen hier in Betracht zu ziehenden Verhältnisse näher eingehen, hier kann es aber geeignet sein, auf einige Punkte aufmerksam zu machen, die die methodische und morphologische Seite der Frage betreffen.

Daß in gewissen Fällen wirklich eine hohe Konstanz der Chromosomenzahl erreicht wird, kann nach den Angaben hervorragender Forscher, sowie nach unseren Zählungen an *Allium Cepa* (Kap. 1, § 5 und Textfig. 3) nicht bezweifelt werden. Dagegen läßt es sich nicht ohne weiteres behaupten, daß diese Konstanz eine absolute werden könnte. Zählungen können auch bei großer Mühe und Zeitaufwand nur in relativ sehr begrenzter Anzahl vorgenommen werden. Da man aber hierbei immer beliebige Kernplatten wählt, müssen z. B. die von mir abgebildeten 11 Fälle bei *Allium* auf eine sehr hohe Konstanz hindeuten. In der Literatur hat man meistens nicht angegeben, wie viele sichere Zählungen vorgenommen wurden, daher läßt es sich nicht entscheiden, wie weit verbreitet eine so hohe Konstanz der Chromosomenzahl wie bei *Allium* ist[1]).

Geht man von der wohlbegründeten Behauptung aus, daß die Konstanz der Chromosomenzahl nicht zufällig in einigen Spezies erreicht ist, so ließe es sich denken, daß viele Angaben über schwankende Chromosomenzahlen auf fehlerhafter Methodik beruhen. Wir haben ja gesehen, daß bei nicht ganz vorzüglicher Fixierung Chromosomen leicht verklebt werden können. Die Kernplatten können beim Schneiden zerschnitten und die im fixierten und eingebetteten Zustand spröden Chromosomen zerbrochen werden usw. Ich weiß nicht, ob man die fehlerhaften Zählungen Merrimans und Bonnevies an *Allium* (s. S. 397) auf solche Verhältnisse oder auf reine Beobachtungsfehler zurückführen soll.

Wo dieselben Spezies von verschiedenen Forschern untersucht worden, hat man auch daran zu denken, daß verschiedene Rassen verschiedene Chromosomenzahlen besitzen können. Als Beleg hierfür kann angeführt werden, daß nach Yoshinari Kuwada (1911) die Zahl der Doppelchromosomen („Gemini“) bei der Reduktionsteilung verschiedener Rassen von *Zea Mays* L. zwischen 9 und 12 variiert. Daß Varietäten und verwandte Species sehr verschiedene Chromosomenzahlen aufweisen können, ist genugsam bekannt.

Eine Tatsache, die für das Zählen der Chromosomen sicherlich von größter Bedeutung ist, ist die Quersegmentierung derselben. Bei *Allium Cepa* fanden wir sehr häufig Chromosomen, die etwa in der

[1]) Vgl. die Zusammenstellung bei della Valle (1909) S. 14—18.

Mitte eingeschnürt oder sogar völlig segmentiert waren. Berücksichtigt man nicht diese Segmentierungstendenz der Chromosomen, die nicht in regelmäßiger Weise aufzutreten scheint und die übrigens durch Fixierung und Färbung in verschiedener Weise scheinbar verstärkt oder abgeschwächt wird, sondern zählt man alle Karyotinsegmente, die freie Enden haben, so kann man zu sehr schwankenden Ergebnissen kommen. Ein Blick auf Textfig. 3 zeigt dies sogleich.

Nun fragt man vielleicht: Wie kann es entschieden werden, was als Segment von ganzen Chromosomen und was als freies Chromosom betrachtet werden soll? Ja, diese Frage kann in der Tat kaum befriedigend beantwortet werden. Besonders komplizierte Fälle entstehen bei gleichzeitiger Verklebungstendenz und Segmentierungstendenz der Chromosomenenden (vgl. *Vicia Faba*).

In einem solchen Fall wie bei *Allium* bietet die Beantwortung der obigen Frage keine größeren Schwierigkeiten dar. Hier sind die Chromosomen erstens niemals endverklebt. Außerdem sind sie im Spiremstadium selten segmentiert und können hier gezählt werden. Endlich entfernen sich die Segmente der Metaphase-Chromosomen nicht viel von einander (Textfig. 3). Alles dies macht das Zählen hier relativ sicher.

Anders ist es in solchen Fällen, wie bei *Vicia Faba*, wo offenbar sowohl Segmentierungstendenzen wie Endverklebungstendenzen der Chromosomen herrschen. Ähnliche Verhältnisse begegnen einem vielleicht in *Funkia Sieboldiana*[1]), *Galtonia*[1]) und anderen Pflanzen. Besonders bei *Vicia*, wo die Chromosomen so lang und in verschiedener Weise gekrümmt und gebogen sind, daß ihre Länge sich nicht messen läßt, kann wohl niemals entschieden werden, ob die beobachteten Querspalten in denselben durch Endverklebung freier Chromosomen oder durch Segmentierung ganzer dergleichen entstanden sind. Daß man dessenungeachtet berechtigt ist, hier eine Inkonstanz der Chromosomenzahl zu behaupten, setzten wir S. 418 auseinander.

In Fällen, wo nicht hinreichend viele Zählungen vorgenommen wurden, kann wegen der erwähnten Verhältnisse aus schwankenden Zahlen nicht sicher eine inkonstante Chromosomenzahl gefolgert werden. In der Tat wären kritische Untersuchungen hier sehr wünschenswert und unbedingt notwendig, um die Faktoren präzisieren zu können, die in einzelnen Fällen das Schwanken der Zahl bedingen. Besonders sollte man vergleichende Zählungen im Spiremstadium und in der Metaphase anstellen. Bei einer Annahme von Segmentierungen oder Verklebungen könnten allerdings die meisten Angaben über schwankende Chromosomenzahlen in einer mit dem „Gesetz der Zahlenkonstanz“ überein-

---

[1]) Vgl. E. Strasburger (1905); Sykes (1908).

stimmenden Weise erklärt werden. Solange die Merkmale der Chromosomen nur morphologisch sind, muß man aber an der morphologischen Selbständigkeit derselben festhalten. Da aber Endverklebungen und Segmentierungen zumeist nur temporär sind, können durch vergleichende Zählungen im Spiremstadium, in Metaphase und in Anaphase die hierdurch entstehenden Unzulänglichkeiten zum großen Teil beseitigt werden. Eigentlich würde man wohl nur diejenigen Chromosomen für ganz oder morphologisch selbständig halten, die selbständig aus dem Gerüstwerk heraus differenziert werden. Aber dies zu entscheiden ist eine heikle Sache, denn das Merkmal der Morphogenese der Chromosomen ist eben eine von Null aus gesteigerte morphologische Selbständigkeit der Karyotinsegmente. In der Interphase bildet ja das Karyotin ein zusammenhängendes Gerüst, aus dem die Chromosomen durch allmähliches und lokalisiertes Verschwinden der Anastomosen herausdifferenziert werden (vgl. 1912c).

Die von uns beobachtete ausgesprochene Segmentierungstendenz der Chromosomen bei *Allium* (und *Vicia*) erlaubt uns zwar, eine Konstanz der Zahl derselben zu behaupten, sie läßt aber — wie es mir scheint — kaum zu, dem Gesetz der Zahlenkonstanz immer eine solche Formulierung zu geben, wie es Boveri gemacht hat (s. oben). Denn bei der bei *Allium* manchmal zum völligen Zerfall der Chromosomen in zwei oder mehrere Stücke führenden Segmentierung derselben treten in die Tochterkerne bedeutend mehr getrennte Karyotinsegmente herein als solche in der Prophase wieder herausdifferenziert werden. In der Prophase sind nämlich die Chromosomen unsegmentiert, und es kann übrigens kaum behauptet werden, daß der Ort der Segmentierung und die Zahl der Segmente immer dieselben sind. Zusammen mit der Individualitätshypothese und da — wie schon gesagt — die Merkmale der Chromosomen zurzeit nur morphologisch sind, erscheint mir daher die von Boveri gewählte Formulierung nicht völlig geeignet. Im Anschluß an das oben Gesagte könnte man folgende Regel aufstellen: In vielen Fällen ist die Zahl der bei vegetativen Kernteilungen in der Prophase herausdifferenzierten morphologisch selbständigen Karyotinsegmente (Chromosomen) konstant. Dieses Gesetz oder diese Regel, wie ich lieber sagen möchte, gilt selbstverständlich nur bei normalen Kernteilungszyklen. In abnormen Fällen, wie z. B. bei vorheriger Verschmelzung zweier Kerne, gilt sie nicht, denn hier wird der normale Zyklus gestört und die Entwicklungsbahn der Zellen eine andere.

Das Gesetz Boveris hat eine so allgemeine Formulierung, daß auch diese abnormen Fälle mit hineinbezogen werden. Tatsächlich kann es nicht wegräsonniert werden, daß Boveris Gesetz auch in vielen abnormen Fällen gültig ist, ich ziehe es aber wegen der oben

erwähnten Verhältnisse und des wichtigen Umstandes, daß es auch Fälle gibt, wo die Chromosomenzahl inkonstant ist, vor, kein Gesetz, sondern eine Regel, die, wie alle Regeln, nicht ohne Ausnahmen ist, aufzustellen und dieser die obige Formulierung zu geben.

Ein allgemeines physiologisch-morphologisches Gesetz der Chromosomenzahl. Unsere eigenen Untersuchungen und die oben angestellten Betrachtungen haben gezeigt, daß man bei der Chromosomenzahl eben seine Aufmerksamkeit auf die aus dem Gerüst hervorgehenden Chromosomen richten soll. Nach der Auflösung der Kernmembran werden die Chromosomen so vielen neuen Beeinflussungen ausgesetzt, daß sie — wie wir gefunden haben — sehr häufig quersegmentiert werden. Es leuchtet ein, daß man deshalb die Chromosomen nicht wie morphologisch kontinuierliche Bildungen, wie eine Art elementare Organismen betrachten kann, denn eine Querteilung würde in diesem Falle gleichbedeutend mit einer Längsspaltung sein, und man hätte die absurde Annahme zu machen, daß die Chromosomen als Individuen betrachtet bei der Quersegmentierung eine wirkliche Vermehrung erfahren. Verläßt man aber die in dieser Weise unmöglich gemachte Hypothese von einer morphologischen Kontinuität der Chromosomen und richtet man vornehmlich die Aufmerksamkeit auf die Eigenschaften des Karyotins und des Kerns, in jeder Prophase in der Regel eine bestimmte Anzahl Segmente hervorgehen zu lassen, so fallen die durch die nachherigen Quersegmentierungen entstandenen Schwierigkeiten weg. Das Hauptgewicht wird jetzt auf die stofflichen Eigenschaften des Karyotins oder überhaupt auf die Spezifizität der inneren Bedingungen im Kern gelegt. Offenbar sind diese Bedingungen sehr konstant, und vielleicht sollten wir eine stoffliche Verschiedenheit, eine stoffliche Kontinuität der Chromosomen annehmen. Wir können nicht näher auf diese theoretisch wichtige, aus der Tatsache der Quersegmentierungen und der konstanten Zahl der Segmente in der Prophase hervorgegangenen Folgerungen eingehen. Es leuchtet aber ein, daß ein Zahlengesetz eben auf die erwähnten Verhältnisse Rücksicht nehmen muß. Wir verstehen jetzt auch, daß überhaupt kein allgemein gültiges Zahlengesetz aufgestellt werden kann, solange unsere Merkmale der Chromosomen nur morphologische sind, und weil es sich bei der Verteilung des Karyotins auf eine Anzahl Segmente nicht um morphologisch kontinuierliche und wie Organismen sich teilende Individuen handelt, sondern auf eine durch die inneren Verhältnisse gegebene Stoffverteilung (d. h. im Karyotin) ankommt. Eben diese Stoffverteilung ist es, die konstant zu sein scheint und in der Prophase eine gewisse Anzahl Chromosomen hervortreten läßt. Ob diese Chromosomen dann ganz bleiben oder sich segmentieren, ist ganz nebensächlich, eben weil die pro-

phasische Stoffverteilung eine viel konstantere Erscheinung ist als die Verhältnisse, die den inneren Zusammenhang der einzelnen Chromosomen in der Meta- und Anaphase bedingen.

Ein „Zahlengesetz“ ließe sich in Übereinstimmung mit dem Gesagten vielleicht in folgender Weise formulieren. Im Karyotin herrscht ein Bestreben, eine Tendenz, den Stoff so zu verteilen, zu gruppieren, daß eine bestimmte Anzahl Chromosomen in der Prophase herausdifferenziert wird. Dieses Bestreben scheint auch fortwährend vorhanden zu sein, wenn das Karyotin mit einem anderen zusammenkommt (bei der Befruchtung), oder wenn es nur partiell in einen Kern eingetreten ist (bei abnormen Kernteilungen). Gegen das erwähnte, mit den stofflichen Eigenschaften des Karyotins eng verknüpfte Bestreben können andere variable Verhältnisse wirken, die einen Zerfall, ein Endverkleben usw. der Kernfäden herbeiführen. Diese variablen Verhältnisse, Faktoren, setzen namentlich dann ein, wenn die Kernwandung aufgelöst ist und die Chromosomen in der Spindelsubstanz liegen. Sie können wohl aber — obwohl seltener und in geringerem Grade — schon im geschlossenen Kern während des Bildungsvorgangs der Chromosomen selbst einsetzen und so ein Schwanken der Chromosomenzahl von Anfang an bewirken. Man hat also hier wohl zwei Dinge auseinanderzuhalten: Einmal die Tendenz zur konstanten Gruppierung des Karyotins und dann ein Bestreben der Umgebung, diese Gruppierung zu stören. Die erstgenannte Tendenz hat man wohl als ein in den stofflichen Eigenschaften liegendes erbliches Vermögen des Karyotins zu betrachten, während das andere, störende Bestreben aus den Beeinflussungen der Umgebung des Karyotins hervorgehen könnte. Wir wollen nicht diese Sachen weiter ausmalen. Was ich betonen will, ist, daß in das „Gesetz der Zahlenkonstanz“ ein physiologisches Moment hineingebracht werden muß. Dieses physiologische Moment hängt eben mit der Verschiedenwertigkeit der Chromosomen und den Eigenschaften des Karyotins überhaupt zusammen, und hier hat die künftige Forschung viel zu tun. Das obige „Zahlengesetz“ enthält — wie gesagt — ein physiologisches Moment; wir haben uns hier auf die Argumente für die Verschiedenwertigkeit der Chromosomen gestützt (vgl. Boveri 1907 und unten). Diejenigen, die hierin ein unzulässiges Hypothetisieren erblicken, können sich an die vorhin aufgestellte, nur auf die nächstliegenden morphologischen Tatsachen bauende Regel halten.

Weitere Tatsachen. Aus unseren bisherigen Erörterungen und unseren Befunden über Quersegmentation der Chromosomen geht hervor, daß das Problem der Chromosomenzahl noch nicht erledigt ist, daß es vielmehr weiterer und — wie oben gesagt — besonders eingehender und vergleichender Untersuchungen bedarf, um es zur

Lösung zu bringen. Wahrscheinlich wird dies nicht gelingen, ehe man nachgewiesen hat, ob die Chromosomen wirklich qualitativ verschieden sind oder nicht, ehe man also statt unsicherer morphologischer Merkmale derselben physiologische hat einführen können.

Bis dahin bleibt es unwidersprechlich, daß unsere morphologische Regel (S. 430) nicht allgemein gültig ist. Ausnahmen kommen vor. Ein Teil dieser Ausnahmen ist vielleicht nur scheinbar und, wie wir vorher erwähnten, auf fehlerhafter Methodik oder sonstigen Differenzursachen bergündet. In Fällen, wo man doppelte oder halbe Zahlen gefunden hat, kann dies vielleicht mit Quersegmentierungen sämtlicher Chromosomen in der Mitte (vgl. *Allium*) zusammenhängen. Nach Julin[1]) treten in Ovozyten von *Styclopsis* (einer Ascidie) bald 8, bald 4 Chromosomen auf, Boveri und Stevens fanden bei *Echinus microtuberculatus* die Zahlen 18 und 36, Stevens (1904) bei der Eireifung von *Planaria* bald 6, bald 3 Chromosomen, bald Mittelzahlen, vom Rath, Lee, Prowazek fanden bei *Helix pomatia* 48, aber Ancel ebenda nur 24 Chromosomen[2]). Grégoire und Deton (1906) wiesen in somatischen Mitosen von *Ophryotrocha* die Zahlen 8 und 4 nach.

In anderen Fällen, wo unregelmäßigere Zahlen erhalten werden, kann man kaum ohne die Annahme einer schwankenden Zahl der aus dem Gerüst herausdifferenzierten Chromosomen auskommen[3]). Und wie aus der Zusammenstellung della Valles (1909) hervorgeht, scheinen diese Fälle sogar zahlreicher als diejenigen zu sein, in denen man eine konstante Zahl beobachtet hat. Freilich reduziert sich wohl die Anzahl der unzweifelhaftesten Fälle, wenn man Beobachtungsfehler und dergleichen (vgl. oben) berücksichtigt.

Interessant ist die Beobachtung della Valles (1909), daß in *Salamandra maculosa* die Chromosomenzahl wie übrige Eigenschaften der Individuen variiert. della Valle hat sich freilich bei den 12 genau ausgeführten Zählungen (a. a. O. Taf. I) nicht an ein und dieselbe Phase gehalten, sondern Prophasen, Metaphasen und Telophasen benutzt, so daß es nicht ausgeschlossen ist, daß Segmentierungen bei der Variation eine Rolle gespielt haben können; aber auch in Metaphase und Prophase allein findet er inkonstante Zahlen.

Die von uns beobachteten Unregelmäßigkeiten in der Chromosomenzahl bei *Vicia Faba* (S. 418, Textfig. 6 u. 7) scheinen nicht

---

[1]) Zitiert nach Montgomery 1906, S. 154.

[2]) Lit. bei Häcker, Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger, Ergebn. und Fortschr. der Zoologie, Spengel, Bd. 1, 1907, S. 38 ff. Man beachte hier auch das oben über Rassen Gesagte. Boveri fand für *Ascaris megalocephala* und *lumbricoides* zwei Rassen mit 4 und 2 bzw. 48 und 24 Chromosomen.

[3]) Vgl. die Angaben S. 427 f. und die Zusammenstellung bei P. della Valle (1909) S. 23—37.

einfachen Variabilitätsregeln zu folgen. Auch ist dies nicht der Fall bei der Segmentation der *Allium*-Chromosomen. Hierbei sind aber die methodischen Schwierigkeiten zu beachten. Ein Aufschluß über die Art der Variation läßt sich natürlich nicht durch bloße Zählungen gewinnen.

Wie große Schwierigkeiten bei der Zählung von Chromosomen in sogar relativ sehr einfachen Fällen entstehen können, geht aus einer neuerdings erschienenen Arbeit von Alice M. Boring (1909), einer Schülerin Th. Boveris, hervor. Die Zahl der Chromosomen von *Ascaris megalocephala* var. *bivalens* wurde ursprünglich auf 4 diploid bestimmt (Boveri 1887). Herla (1895) fand ein kleines fünftes Chromosom in den Eiern von zwei Pferdespulwürmern derselben Varietät. In den meisten Eiern fand er, daß eins von den großen Chromosomen kürzer als die drei anderen war, und vermutete daher, daß eine Segmentation vorläge. In einigen Eiern fand er aber neben dem fünften kleinen Chromosom 4 von normaler Länge, und er glaubte dann disperme Eier vor sich zu haben, die von einem *bivalens*- und einem *univalens*-Spermatozoon befruchtet waren. Fräulein Boring, welche das Verhältnis näher untersucht hat, kann nicht mit Bestimmtheit sagen, ob dieses kleine Chromosom, das häufig bei *bivalens*-, sehr spärlich bei *univalens*-Würmern beobachtet wird, eine „Chromosomeneinheit“ oder nur ein Fragment eines langen Chromosoms darstellt. Es gibt sogar eine dritte Möglichkeit, nämlich, daß man es hier mit zwei verschiedenen Dingen, einer Chromosomeneinheit und einem Fragment, zu tun hätte. Boveri (1909) will es wahrscheinlich machen, daß es sich um ein Hetero-Chromosom („Geschlechts-Chromosom“) handelt, wobei er aber verschiedene neue Annahmen aufstellen muß.

Zusammenfassend läßt es sich sagen, daß unsere Erfahrungen über die Chromosomenzahl dahin gehen, daß in vielen Fällen die aus dem Kerngerüst hervorgehenden Chromosomen bei normalem Kernteilungszyklus eine konstante Zahl besitzen, daß diese Zahl aber in anderen Fällen wechselnd ist. Über die Faktoren, die letzteres bedingen, läßt sich nichts genaueres aussagen (vgl. jedoch unsere obigen Erörterungen), es scheint aber, als ob Fragmentation und Endverklebung der Chromosomen nicht zu vernachlässigende Faktoren wären.

Eine konstante Zahl oder wenigstens eine um ein Mittel wenig schwankende Zahl muß für die Chromosomen jeder Zellenart als Regel betrachtet werden, woher man annehmen muß, daß dies für die Zelle wichtige Vorteile mit sich bringe.

Die Verschiedenwertigkeit der Chromosomen. Mit der Regel der Zahlenkonstanz und natürlich auch mit der Individualitätshypothese nahe zusammenhängend (vgl. oben) sind die Angaben über

konstant wiederkehrende Chromosomenformen oder -Größen. Hierbei ist zu bedenken, daß man unter dem Mikroskop die Chromosomen nur von einer Seite her betrachtet. Ferner verändern die Chromosomen ihre Länge im Laufe der Meta- und Anaphasen (und Telophasen). Detaillierte Angaben über Größen- und Formenunterschiede der Chromosomen sind daher mit Vorsicht aufzunehmen. Dagegen kann es im Hinblick auf die besonders in den letzten Jahren reiche Literatur hierüber nicht geleugnet werden, daß die Chromosomen manchmal einander morphologisch unähnlich sind (besonders betreffs der Länge), und daß die Unähnlichkeiten vererbt werden, d. h. daß sie bei der Teilung verschiedener Zellgenerationen wiederkehren. Da ich selbst kein Material über diese Verhältnisse gesammelt habe, gebe ich in dem folgenden eine kleine Auswahl der vielen in der Literatur zerstreuten Angaben.

Den älteren Zytomorphologen schien die verschiedene Größe der Chromosomen nicht auffallend zu sein. Wenigstens geben Flemming, Retzius, Heuser u. a. in ihren in dem vorhergehenden wiederholt erwähnten Arbeiten mehrmals an, daß die Fadensegmente alle annähernd die gleiche Länge hätten. Es ist aber darauf aufmerksam zu machen, daß dies für viele Organismen zutreffend zu sein scheint. Bei *Allium* z. B. konnten wir keine bestimmten Längenunterschiede feststellen (S. 394), bei *Vicia* beobachtet man zwar anscheinend variierende Chromosomenlängen, infolge der immer beträchtlichen Länge und der verschiedenen perspektivischen Verkürzung der Chromosomen dieser Pflanze kann aber näheres hierüber nicht ermittelt werden.

Daß die Länge der Kernfäden sowohl in Geweben wie in einzelnen Knäueln variiren kann, wurde von Rabl (1885 S. 252) beobachtet. Nachher machte Strasburger[1]) ähnliche Beobachtungen.

Erst in neuerer Zeit widmete man aber den Größenunterschieden der Chromosomen besondere Aufmerksamkeit. Botanischerseits fand Guignard (1899) in den Pollenmutterzellen und in der Antherenwandung von *Najas major* konstante Größenunterschiede der Chromosomen. O. Rosenberg (1905) fand in den Gonotokonten von *Listera* 5 große und 11 kleinere Chromosomen, Strasburger (1900a, 1905) beschrieb ebenfalls große und kleine Chromosomen in *Galtonia* und *Funkia* (siehe auch Miyake 1905). Clemens Müller (1909) beschreibt neuerdings auffallende Größenunterschiede der Chromosomen in Wurzelspitzen von *Yucca,* und Rosenberg (1909) fand bei *Crepis virens* 2 sehr kleine, 2 etwas längere und 2 sehr lange Chromosomen.

[1]) Verschieden große Chromosomen hatte Strasburger schon 1882 und 1884 bei *Funkia* und anderen Pflanzen beobachtet.

In vielen Fällen wurde es nachgewiesen, daß bei der ersten Reifungsteilung Chromosomen derselben Größe paarweise verbunden sind.

Zoologischerseits findet man hierher gehörende Angaben (vgl. V. Häcker 1907, S. 40 ff.) bei Montgomery (1901, 1904), Sutton (1902), Wilson (1906), Baumgartner (1904), Boveri (1890, 1904, 1907), Hewitt (1906), A. und K. E. Schreiner (1904), Kr. Bonnevie (1906) u. a. Besonders deutlich sind die von Wilson gegebenen Bilder über Chromosomenpaare verschiedener Größe. In Anbetracht der hier sichtbaren, manchmal sehr geringen Größenunterschiede muß man jedoch diese und ähnliche Angaben z. T. mit Vorsicht aufnehmen (vgl. oben). Fast alle Forscher geben auch zu, daß die Größenunterschiede nicht ohne weiteres klar zutage treten. Montgomery (1906), der jedoch ein besonders eifriger Vorkämpfer der doppelten Chromosomenreihen ist, gibt an, daß bei *Harmostes* die Komponente jedes Chromosomenpaares leichte Unterschiede, Form und Größe betreffend, aufweisen.

Andererseits scheinen im Spiremstadium und in der Metaphase sehr konstante Verhältnisse zu herrschen, die das Wiederkehren sogar besonderer Gestalten der Chromosomen bedingen können. Wenigstens gibt Montgomery (1906) an, daß bei *Oedancala dorsalis* die Chromosomenpaare eher an Besonderlichkeiten der Form als Größe zu erkennen sind. Konstante Formenverhältnisse der Chromosomen fanden u. a. auch Mc Clung (1902), Baumgartner (1904), Moore und Arnold (1906), Vejdowsky und Mrazek (1903). Diese Forscher haben in den Prophasen und Metaphasen der ersten Reifungsteilung ring-, kreuz- oder f-förmige Chromosomen konstant gesehen. Nach den Angaben Boveris (1907) lassen sich bei den Echiniden deutlich konstante Größenunterschiede beobachten.

Ein konstantes Auftreten bestimmter Chromosomenformen setzt wohl eine Verschiedenwertigkeit derselben voraus, denn nur innere formgestaltende Verhältnisse können eine solche Konstanz hervorbringen. Andererseits müssen wohl auch, bei der Flexibilität oder zähflüssigen Konsistenz der Chromosomen, zur Realisierung solcher spezifischen inneren Fähigkeiten die während der Kernteilung entfalteten allgemeinen Kräfte, die die dabei eintretenden Ortsveränderungen der Chromosomen bewirken, in genau geregelter Weise einsetzen oder jedenfalls auf alle Chromosomen eine übereinstimmende Wirkung haben. Da spezifische Chromosomengestalten vorwiegend bei der Reifungsteilung I beobachtet worden sind, scheint dies für eine besonders fest eingerichtete Mechanik bei dieser Teilung zu sprechen.

Auch in vegetativen Kernteilungen können gemäß der zweckmäßigen und hoch entwickelten Mechanik, die um so fester eingerichtet sein muß, als die Teilung der Zellen ein Vorgang ist, der

sich im Leben jedes Individuums tausend- oder millionenmal abspielt, in bestimmten Phasen konstant wiederkehrende Chromosomengestalten erwartet werden; es leuchtet aber ein, daß die Variabilität hier einen größeren Spielraum haben muß als bei den Reifungsteilungen. Und auch bei diesen können natürlich nicht immer oder sogar als Regel konstante Chromosomenformen erwartet werden. In der Tat liegen auch positive Angaben hierfür vor (siehe Häcker 1907 S. 40 ff.). Blackman (1905), Lerat (1905), Tretjakoff (1904), Zweiger (1906), Foot und Strobell (1907) u. a. führen Belege dafür an, daß die Form der Chromosomen nicht konstant ist und daß die Chromosomen verschiedenzeitig entwickelt und deshalb verschiedenartig gestaltet werden. Inkonstante Größenunterschiede hat Tischler (1906) bei einem *Ribes*-Bastard und bei einer seiner Elternformen gefunden, und zoologischerseits liegen Angaben von Conklin (1902), Janssens und Erlington (1904), Dublin (1905), Foot und Strobell (1907), C. Rabl (1906) u. a. vor, die das Vorkommen ungepaarter oder das inkonstante Auftreten verschieden langer Chromosomen bestätigen.

Inkonstante und wechselnde Formen der Chromosomen hängen selbstverständlich damit zusammen, daß die Vorgänge der Äquatorialplattenbildung, der Chromosomentrennung nicht immer in genau derselben Weise ablaufen (vgl. die speziellen Angaben im Kap. 1, § 8), sondern daß kleine und für den Zweck des Kernteilungsvorgangs nebensächliche Variationen stattfinden, darauf beruhend, daß die Präorientierung der Chromosomenschlingen nicht immer dieselbe ist (vgl. Kap. 2, § 3 und dieses Kapitel § 4) usw. Selbstverständlich werden die möglichen Variationen in der Gestalt der einzelnen Chromosomen, sowie in der Konfiguration der ganzen Äquatorialplatte um so mannigfaltiger, je länger und schlanker die Chromosomen sind (vgl. *Allium* und *Vicia*). Daß auch die Karyotinmenge der einzelnen Chromosomen wechselt und dieses zu einer erhöhten Variationsfähigkeit beitragen kann, ist nicht ausgeschlossen, nach obigen Angaben zu urteilen scheint jedoch häufig eine gewisse Relation der Volumina der einzelnen Chromosomen zueinander erhalten zu werden. Überhaupt lehren die positiven Angaben über konstante Gestalten und Volumina der Chromosomen, daß diese in irgend einer Weise verschiedenwertig sind, obwohl nicht behauptet werden kann, daß diese Verschiedenwertigkeit immer erhalten wird, sehr verbreitet ist, oder vorwiegend auf qualitativen Differenzen beruht.

Wie schon vorher bemerkt, betreffen die meisten Angaben über konstante Verschiedenheiten der Gestalt und des Volumens der Chromosomen die heterotypische Kernteilung. Vielleicht deutet dies auf überhaupt konstantere Verhältnisse bei diesem wichtigen Vorgang hin oder beruht einfach darauf, daß die meisten Forscher sich nur mit

dieser Teilung beschäftigt haben. Jedenfalls fehlen Angaben über eine durchgehende Formen- oder Größenkonstanz in dem ganzen Individuum, und es läßt sich sehr wohl behaupten, daß in betreffender Hinsicht spezifische Verschiedenheiten zwischen Somazellen und Geschlechtszellen auftreten können, da doch die Mechanik der Reifungsteilungen eine etwas andersartige als die der vegetativen Kernteilungen ist.

Treten bestimmte und wiederkehrende Formen der Chromosomen auf, so ist dies eben als eine Reaktion der spezifischen inneren Fähigkeiten derselben auf die in einer gegebenen Phase herrschenden Kraftkonstellationen zu betrachten, die bei andersartiger Konstellation oder kleinen Verschiebungen zwischen den maßgebenden Kräften auch andersartig ausfallen muß. Daher wechselt die Chromosomenform sehr unter abnormen Bedingungen (Narkotisierung, Plasmolyse usw.), und daher kann eine auffallende Konstanz eigentlich erst bei sich übereinstimmend verhaltenden Zellen erwartet werden, während sie andererseits eben ein Zeichen übereinstimmender karyokinetischer Bedingungen und dauernder Verschiedenwertigkeit[1]) der Chromosomen ist.

* * *

Doppelte Chromosomensätze. Paarigkeit der Chromosomen in der typischen Teilung. Eine Eigentümlichkeit, die man, wie schon aus den obigen zoologischen Angaben hervorgeht, zusammen mit konstanten Größen- und Formverschiedenheiten der Chromosomen beobachtet hat, ist die, daß die Chromosomentypen häufig paarweise aufzutreten pflegen, und daß zwischen den gleichen Typen in der heterotypischen Teilung in dieser oder jener Weise eine Paarung eintritt.

Einige Verfasser wollen in neuerer Zeit sogar Paarungen der Chromosomen in der Metaphase der vegetativen Teilungen beobachtet haben. Strasburger (1905, S. 19) beobachtete nach eigener Aussage „zu oft in den Geweben von *Galtonia*, und noch häufiger von *Funkia*, in vorgerückten Prophasen gleich große Chromosomen in Paaren nebeneinanderliegend, als daß es sich nur um zufällige Erscheinungen dabei hätte handeln können". Ich muß jedoch gestehen, daß mir die Paarigkeit in den Figuren 12, 13, 37—40 auf Taf. 1 der erwähnten Arbeit Strasburgers nicht besonders ausgeprägt zu sein scheint. Ein wenig deutlicher ist wohl die Paarigkeit in den Äquatorialplatten von *Pisum*, die Strasburger (1908) abbildet. Über ähnliche Paarigkeiten in somatischen Mitosen haben auch Geerts (1907) und Sykes (1908) berichtet.

Neuerdings wurden diesen Verhältnissen besondere Untersuchungen seitens Cl. Müllers (1909) gewidmet. Die Kernplatten von *Yucca* be-

[1]) Der Begriff wird hier sehr allgemein aufgefaßt.

sitzen zehn lange Chromosomen von unter sich gleicher Länge und zahlreiche, sehr kleine Chromosomen, die nicht gezählt werden können (Müller 1909, S. 103). Nach Müller trat ihm in fast jeder Kernplatte, die er in Polansicht zu sehen bekam, eine paarweise Anordnung sowohl der großen wie der kleinen Chromosomen entgegen, „wenn es auch meist nur eine Auswahl von Paaren war, die sich als solche sofort der Beobachtung aufdrängten" (Müller 1909, S. 104). Zwar findet man in mehreren der Müllerschen Zeichnungen und Photographien eine deutliche Paarigkeit der großen Chromosomen, allein zu sagen, daß auch die kleinen in Paaren auftreten, bleibt — wie es mir scheint — immer etwas willkürlich. Auch kann wohl der unbefangene Beobachter aus diesen Figuren nicht zu der Einsicht kommen, daß es sich um gesetzmäßige Paarungen handelt.

Zoologischerseits sind, soweit mir bekannt ist, Paarungen der Chromosomen in vegetativen Metaphasen nicht beobachtet worden. Jedenfalls ist Strasburgers (1909) Behauptung, „daß es sich um eine allgemeine Erscheinung in diploiden Kernen dabei handelt, wenn sie auch nicht immer auffällig ist", ziemlich schlecht begründet. In den von uns genau untersuchten Kernplatten von *Allium* und *Vicia* vermißt man jede Spur einer ähnlichen Paarung, und solchen sorgfältigen Untersuchern, wie z. B. Flemming, müßte sicher eine solche aufgefallen sein, wenn sie vorhanden wäre. Daß Strasburger die einzelnen von ihm und anderen gemachten Befunde verallgemeinern will, hängt offenbar mit aprioristischen Annahmen zusammen, nämlich damit, daß die Paarlinge verschiedenen Eltern abstammen würden. Solche Annahmen, auch wenn sie zutreffend wären, berechtigen aber nicht dazu, Paarigkeit anzunehmen, wo solche nicht zu beobachten ist.

Gegen Strasburgers Behauptung sprechen übrigens seine eigenen Befunde über die Doppelkerne in chloralisierten Erbsenwurzeln. Er fand (1907) nämlich bei der Teilung dieser Kerne die Chromosomen nicht etwa zu Vieren, sondern fortwährend zu Paaren angeordnet. Strasburger hilft sich aus dieser Schwierigkeit durch eine neue Annahme, nämlich, „daß jene Affinitäten, welche die homologen Chromosomen zusammenführen, mit der Annäherung zweier solcher Gebilde gesättigt sind". Němec (1910) äußert sich auf Grund seiner Chloralisierungsexperimente dahin, daß die Paarigkeit der somatischen Chromosomen — wenn sie beobachtet wird — nicht mit sexuellen Verhältnissen zusammenhängt. Da es wahrscheinlich ist, daß die Paarlinge in der heterotypischen Teilung den somatischen Chromosomen entsprechen (vgl. 1912c), wäre es natürlich nicht besonders überraschend, wenn in gewissen Pflanzen die Bedingungen, die zur Paarung führen, sich auch über die vegetativen Karyokinesen erstreckten, obwohl sie hier

schwächer wären oder jedenfalls die übrigen Faktoren fehlten, die den Paarungsvorgang zu einem Glied besonderer Lokalisationsvorgänge der Chromosomen machen. Überhaupt gilt nämlich von den Kernteilungsvorgängen, oder richtiger von den Faktoren, die dabei mitspielen, daß sie allgemein in dem Sinne sind, daß sie in allgemeinen und daher immer wiederkehrenden und stabilen Eigenschaften der lebenden Materie begründet sind. Verschiedene Tatsachen sprechen auch dafür, daß diejenigen Momente, die die äußersten Ursachen des Verhältnisses sind, daß in den Gonotokonten statt einer vegetativen eine heterotypische Teilung eintritt, in selbigem Sinn allgemein sind. Daher kann es nicht überraschen, wenn gewisse Vorgänge, die für die heterotypische Teilung charakteristisch sind, unter Umständen auch bei der vegetativen realisiert werden, obwohl sie hier nur als Fragmente, nicht als Symptome eines besonderen Mechanismus betrachtet werden dürfen, der nur in besonderen Meristemzellen zur vollständigen Ausbildung kommt.

Solche Fragmente oder Andeutungen eines mehr speziellen Vorgangs sind natürlich interessant, wenn sie auftreten, da sie eben auf das hindeuten, was wir soeben auseinandersetzten, nämlich, daß alle normalen mitotischen Vorgänge, also auch die Reifungsvorgänge, im tiefsten Sinn des Wortes „allgemein“ sind, es hängt aber mit einer fehlerhaften oder einseitigen Auffassung dieser Dinge zusammen, wenn man fordert, daß sie regelmäßig auftreten müßten.

Oben haben wir ja auch erwähnt, daß die Paarung der Chromosomen in der Metaphase der vegetativen Teilung keineswegs eine regelmäßige Erscheinung ist, und außerdem ließen sich einige Bedenken gegen die Homologisierung dieser Paarung mit den in der heterotypischen Teilung zu beobachtenden erheben. Hier soll nun außerdem auf einige Tatsachen aufmerksam gemacht werden, die vielleicht eine einfachere Deutung der erwähnten Verhältnisse ermöglichen.

Die Lage der Chromosomen in der Äquatorialplatte ist bis zu einem gewissen Grad von der Anordnung und den Beziehungen der Chromosomen zu einander abhängig. Sind die Chromosomen z. T. mit den Enden verklebt, so muß dies natürlich einen Einfluß auf ihre Lokalisation in der Metaphase haben, indem zwei Chromosomen, die in dieser Weise zusammenhängen, in die Nähe voneinander zu liegen kommen (vgl. *Vicia* S. 413, Textfig. 6, 7). Und es leuchtet ein, daß bei den Manipulationen, die bei der Bildung der Äquatorialplatte durch Zusammendrücken usw. des ursprünglich sphärischen Chromosomenhaufens stattfinden (s. § 4), zwei endverklebte Chromosomen selten in gerade Linie zu liegen kommen, sondern sie müssen in den meisten Fällen miteinander einen kleineren oder größeren Winkel bilden und

nicht selten ziemlich parallel plaziert werden. Wird dann die Verklebung aufgehoben, so hat man offenbar ein „Chromosomenpaar" vor Augen.

Gewisse Angaben von Strasburger scheinen mir eine derartige Entstehungsweise der von ihm beobachteten Chromosomenpaare nicht unwahrscheinlich zu machen. Er bemerkt nämlich folgendes (1907, S. 429): „Tatsächlich folgen die homologen Chromosomen in dem den Knäuel bildenden, aus dem Gerüstwerk des Kerns herausgesonderten Faden fortlaufend aufeinander (a. a. O. Fig. 41 und 42, Taf. VII), und erst eine später stattfindende Gruppierung bringt sie in eine mehr oder weniger parallele, sie als Paare kennzeichnende Lage". Man sieht auch in mehreren der von Strasburger abgebildeten Äquatorialplatten, wie zwei Chromosomen endweise zusammenhängen. Fragt man nach der Ursache dieser Endverklebung der Chromosomen zu zwei und zwei, so muß ich antworten, daß ich darin nichts besonderes finde. Erstens tritt sie nicht regelmäßig auf (die Paarung ist auch nicht regelmäßig), und zweitens muß es bei primärer Endverklebungstendenz und nachherigem Trennungsbestreben sehr natürlich erscheinen, daß zuletzt nur einfache Verklebungen übrig bleiben, weil bei den in der Metaphase stattfindenden Umordnungen zwei zusammenhängende Chromosomen in viel geringerem Maße Gefahr laufen, auseinandergerissen oder getrennt zu werden, als eine Kette mehrerer Chromosomen. Bei *Vicia* sahen wir auch häufig Beispiele einer Endverklebung zweier Chromosomen, obwohl diese hier zu geschwind wieder auseinandergehen, um zu „Paaren" Entstehung geben zu können.

Wenn ich es also nicht für unwahrscheinlich halte, daß in vielen Fällen die in der Metaphase beobachteten „Paare" eine ziemlich einfache und verständliche Genese haben, so kann ich selbstverständlich gleiches nicht für alle Fälle, wo Paarung von Chromosomen in der vegetativen Kernteilung beschrieben wurde (diese Fälle sind jedoch nicht zahlreich), behaupten. Besonders die Chromosomenpaare, die Müller in *Yucca* beobachtete, scheinen anderen Verhältnissen ihre Entstehung zu verdanken, und hier könnte man an das oben über die Verbreitung heterotypischer Merkmale Gesagte denken. Müller (1909, S. 105) gibt nämlich an, daß er „trotz der hierauf besonders gerichteten Aufmerksamkeit, niemals die Chromosomen von *Yucca* mit ihren Enden verbunden aus der Kernruhe hat treten sehen". Stets bekam er von Anfang an Paare zu sehen. Jedoch fügt er hinzu: „Manchmal berührten sich zwei solche Chromosomen mit ihren Enden, nur recht selten hingegen lagen sie ihrer Länge nach einander an."

Ein anderer Umstand, der vielleicht Paarungen vortäuschen könnte, ist ungünstige Fixierung. Endverklebungen können ja künstlich er-

zeugt werden, und in Analogie mit dem, was ich für Leukoplasten und ähnliche Dinge im Protoplasma fand (1910 b), können unter Einwirkung des Fixiermittels vielleicht abnorme Attraktionen zwischen den Chromosomen ausgelöst werden. Jedenfalls ist die Paarung der Chromosomen nicht im Leben observiert worden. Näheres hierüber läßt sich aber noch nicht aussagen. Wenigstens in *Allium* und *Vicia* scheinen bei guter Fixierung Verlagerungen der Chromosomen nur in geringem Gade stattzufinden. Bei *Cucurbita* waren dagegen die Chromosomen niemals intakt zu erhalten.

Morphogenetische Beziehungen zwischen der angeblichen Paarung der Karyosomen („Prochromosomen") in somatischen Zellen und der Paarigkeit der Metaphasechromosomen lassen sich kaum annehmen. Nach Angaben von Rosenberg (1908, S. 19) und Laibach (1907) liegen die „Prochromosomen" der Länge nach nebeneinander, während die paarigen Chromosomen in vielen Fällen nacheinander folgen. Übrigens beziehen sich Rosenbergs Angaben auf Tapetenzellen, deren Kerne immer eine gewisse Übereinstimmung mit den Pollenmutterzellkernen aufweisen, und Laibach kann vielleicht längsgespaltene Karyosomen vor sich gehabt haben (vgl. 1912 c). Auch die agglutinierende Wirkung der Fixierungsmittel ist hier zu berücksichtigen. In *Vicia* und *Cucurbita* habe ich häufig längsgespaltene, dagegen niemals paarweise angeordnete Karyosomen gesehen (1912 c). Ich muß daher eine Paarung von Karyosomen in vegetativen Kernen, ausgenommen Tapetenkernen, für noch unbewiesen halten.

§ 4. Die Bildungsweise der Äquatorialplatte und das Verhalten der Chromosomen in der Metakinese.

Unsere eigenen Beobachtungen über das Verhalten des Spiremknäuels nach der Auflösung der Kernmembran haben uns zu einer Vorstellung von der Mechanik bei der Bildung der Äquatorialplatte geführt, die — wie es mir scheint — als eine allgemeine Erklärung dieser Stadien gelten könnte. Wir haben gefunden (S. 413), daß die Lageveränderungen der Chromosomen in dem freiliegenden Spiremknäuel am einfachsten in der Weise aufgefaßt werden können, daß der anfangs sphärische Knäuel von zwei gegenüberliegenden Seiten her zusammengedrückt wird, so daß die Chromosomen etwas auseinandergehen und aneinander vorübergleiten in der Weise, daß sie endlich alle in einem Plane zu liegen kommen. Und die Stellung der Platte wird dabei notwendig senkrecht auf die Richtung der behaupteten zusammendrückenden Kräfte oder deren Resultante. Über die Natur dieser Kräfte wird damit nichts ausgesagt. In einem späteren Kapitel werden wir etwas näher auf diese für die Kernteilungstheorie wichtige Frage eingehen.

Schon eine einfache Überlegung und unsere vergleichenden Beobachtungen in Teil A lehren, daß die in der geschilderten Weise entstandene Äquatorialplatte nur dann ganz dünn und plan wird, wenn die Chromosomen klein und mehr oder weniger isodiametrisch sind, wie es z. B. bei *Cucurbita* und Pflanzen mit ähnlichen Chromosomen der Fall ist. Sind aber die Chromosomen sehr lang — wie bei *Allium* und *Vicia* — so verbieten schon die Raumverhältnisse eine ganz flache Ausbreitung des Chromosomenhaufens, und die Chromosomen nehmen daher in diesen Fällen eine mehr oder weniger axiale Orientierung an (d. h. in der Richtung der künftigen Teilungsachse), wobei sie jedoch meistens in ihren mittleren Teilen in dem Äquatorialplan liegen.

Bei der geschilderten Mechanik der Bildung der Äquatorialplatte leuchtet es ein, daß die vorherige Orientierung der Chromosomen in dem Spiremknäuel, bzw. in dem nach der Membranauflösung freiliegenden sphärischen Chromosomenhaufen einen Einfluß auf die spätere Lage derselben in der Äquatorialplatte haben kann. Wir schilderten ja am Schluß des vorigen Paragraphen, wie sich die Verhältnisse bei Endverklebung der Chromosomen gestalten können.

Da die Vororientierung der Chromosomen außerordentlich mannigfaltig sein kann, und da Verhältnisse wie Endverklebung, Kettenbildung usw. zu den verschiedenartigsten Konstellationen Anlaß geben müssen, leuchtet es ein, daß die Konfiguration der ausgebildeten Äquatorialplatte im einzelnen sehr wechselnd sein muß, wie wir dies an der Hand unserer speziellen Objekte auseinandergesetzt haben. Am mannigfaltigsten werden natürlich die in jedem Fall realisierten Anordnungen, wenn die Chromosomen sehr lang sind, so daß sie in dieser und jener Weise verbogen werden und komplizierte Ortsveränderungen durchmachen müssen, um in der Äquatorialplatte eine geeignete Lage zu bekommen. Am einfachsten und am meisten konstant spielen sich aber die entsprechenden Vorgänge bei Pflanzen ab, die kleine Chromosomen besitzen, und hier bekommt auch die Äquatorialplatte ein einfaches und gleichförmiges Aussehen.

Sind die Chromosomen langgestreckt, so nehmen sie nicht selten eine sternförmige Gruppierung an, und S. 413 geben wir eine Erklärung dieses häufig wiederkehrenden Plattentypus. Dabei variieren doch — wenigstens bei vielen Pflanzen (vgl. *Allium, Vicia*) — die Anordnungen der Chromosomen im einzelnen nicht unbeträchtlich. „Regelmäßige Muttersterne" scheinen mir überhaupt bei Pflanzen nicht so häufig wie bei Tieren beobachtet worden zu sein, womit dies nun zusammenhängen mag. Die Bildung der Äquatorialplatte verläuft wohl auch nicht ganz übereinstimmend bei höheren Pflanzen und Tieren, denn hier pflegen Zentrosomen oder dergleichen Bildungen aufzutreten, die mehr lokalisierte Auflösungsvorgänge der Kernmembran

bewirken und außerdem schon vorher die Lage der Chromosomen beeinflussen können. Die regelmäßigen Muttersterne, wo die Chromosomen V-förmig sind und derart liegen, daß die beiden Schenkel zentrifugal gerichtet sind, werden wohl durch die gegebenen Raumverhältnisse und die in der Metaphase tätigen, äquatorialwärts gerichteten Kräfte bedingt. Hierbei ist vielleicht auch die V- oder J-Form, die die Chromosomen bei der Rablschen Orientierung erhalten, von Bedeutung.

Eine genaue Analyse der Stadien der Äquatorialplattenbildung läßt sich selbstverständlich noch nicht ausführen, es scheint mir aber, daß wir in dem Obigen die wichtigsten Punkte berührt hätten (vgl. auch Kap. 6).

In der Metaphase tritt bekanntlich die Längsspaltung deutlich hervor (vgl. § 1). Ob die Chromosomen sich immer durch Drehung oder Ortsveränderung so orientieren, daß die Längshälften je nach einem Pole gerichtet sind, kann nicht bestimmt gesagt werden. Bei kurzen Chromosomen kann man doch dies sehr deutlich und regelmäßig beobachten, und allem Anschein nach herrscht immer ein Bestreben, den durch die Längsspaltung entstandenen ovalen oder bisquitförmigen Querschnitt so einzustellen, daß die längere Achse mit der Achse der Spindelfigur parallel wird. Bei gedrehten Doppelchromosomen kann dies natürlich nicht für alle Teile derselben realisiert werden. In Textfig. 6 u. 7 und Fig. 46, 48, Taf. XIV sehen wir zahlreiche Beispiele, wo die beiden Hälften z. T. nebeneinander im Äquatorialplan liegen. Jedoch scheint die aus dem Spiremstadium stammende Drehung der Längshälften umeinander bei der Äquatorialplattenbildung allmählich aufgehoben zu werden, bei welchem Vorgang vielleicht die hier stattfindende Verdickung und Verkürzung der Schlingen von Bedeutung ist. Bei *Allium*, wo die Drehung der Doppelchromosomen überhaupt ziemlich wenig ausgeprägt ist (vgl. Fig. 6–9, Taf. XI), pflegen die Hälften in der Äquatorialplatte parallel zu liegen (Fig. 10, 11, Taf. XI; 13, Taf. XII). Bei *Vicia*, wo Drehungen der Chromosomenhälften umeinander häufiger vorkommen, kann man auch noch in diesem Stadium solche beobachten (Fig. 43, 46, Taf. XIV). Ob auch diese ausgeglichen werden, so daß die Hälften zuletzt immer, z. B. wie in Fig. 44, Taf. XIV zu liegen kommen, kann nicht sicher entschieden werden. Jedenfalls dürfte aus den Figuren hervorgehen, daß die langen Chromosomen niemals völlig in einer prinzipiell ähnlichen Lage wie die kurzen zu liegen kommen. Die regelmäßige Äquatorialplatte mit kleinen Chromosomen können wir als einen Grenzfall betrachten, auf dessen Realisierung die in der Kernspindel tätigen Kräfte immer hinarbeiten. Entgegen diesem Bestreben setzen sich aber bei langen Chromosomen örtliche Verhältnisse und wohl auch Trägheitsmomente. Die Be-

ziehungen zwischen den Polen und den Chromosomenhälften herrschen offenbar unabhängig von der Lage der letzteren, und es wäre auch sehr sonderbar, falls die Mechanik der Karyokinese von so unsicheren Momenten, wie genaue Orientierung der Schlingen ganz abhängig wäre (vgl. Kap. 6). Der Zufall entscheidet sicher darüber, welche Hälfte eines Chromosoms nach dem einen oder nach dem andern Pole wandert. Bei kurzen und symmetrisch orientierten Doppelchromosomen gehen die Hälften selbstverständlich nach dem am nächsten liegenden Pol, bei langen Chromosomenschlingen, die nicht genau orientiert sind, kommt wohl ein gewisser Wetteifer zustande, wobei sich die einzelnen Attraktionswirkungen der Chromosomenteile summieren und die Summe dann darüber entscheidet, nach welchem Pol die eine und die andere Hälfte gehen muß.

Die Metakinese. Der Zweck der metaphasischen bzw. prophasischen Längsspalte wurde von den ersten zytomorphologischen Untersuchern nicht völlig durchschaut. Die Längsspaltung wurde von Flemming, Retzius, Pfitzner u. a. entdeckt, und man beobachtete, wie die Fäden der Äquatorialplatte auseinanderweichen, wobei eine Anzahl von ihnen nach dem einen, der Rest nach dem andern Pole wandern, und daß etwa die Hälfte aller Segmente in dieser Weise jedem Tochterkern überliefert wird. Über die Umlagerungen, die dem Auseinanderweichen der Segmente vorausgehen, vermochte man einstweilen keine näheren Aufschlüsse zu geben. Jedoch hatte man sich wohl z. T. schon eine Vorstellung von denselben gebildet[1]).

Retzius (1881a, S. 119), schreibt also: „Die Schleifen scheinen sich in zwei ungefähr gleich große Gruppen zu verteilen, in welcher Weise dies geschieht, bleibt uns bis auf weiteres ebenso rätselhaft, wie die trennende oder anziehende Kraft selbst. Durch die Annahme, daß sich die durch die Flemmingsche Längsspaltung der Fäden entstandenen feinen Fadenschleifen zu zwei solchen verschiedenen Gruppen anordneten, ließe sich einiges erklären; es liegen aber noch keine direkten Beweise dafür vor, daß die zwei Zwillingsfäden jedes Mutterfadens nach den beiden entgegengesetzten Zentren sich trennen und ziehen lassen.“

In seinem Zellenbuch sprach Flemming eine ähnliche Vermutung aus. Er hatte auch beobachtet, daß die Zahl der Schleifen „in jedem Tochterstern ebenso groß ist wie in seinem Mutterstern, der noch keine Längsspaltung hatte“ (1882, S. 235). Guignard (1884, S. 26) sah in den Endospermkernen die Flemmingsche Längsspaltung, und in einer Figur (Fig. 108) bildet er in dem Spindelkern Segmente ab, die „augen-

[1]) Die Literatur findet man auch bei Strasburger, Progr. rei bot., Bd. I, 1906, zusammengestellt.

scheinlich im Begriff sind, eine longitudinale Verdoppelung zu erfahren und sich so in zwei Hälften zu trennen, die für je einen der beiden Tochterkerne bestimmt sind". E. van Beneden (1883, S. 328, 380) gibt an, daß in den *Ascaris*-Eiern jedes primäre Segment sich der Länge nach teilt und daß es „eine Schleife seiner Substanz jedem der beiden Tochterkerne liefert". Dieser Tatsache wird auch seitens van Benedens eine große Bedeutung zugemessen.

Die Beobachtungen und Behauptungen der erwähnten Forscher gingen also dahin, daß der Zweck der Längsspaltung der Chromosomen sehr wahrscheinlich der ist, daß die Tochterkerne von jedem Chromosom genau die Hälfte empfangen sollen. Völlig bewiesen war dies noch nicht und wurde es wohl auch nicht durch die späteren Untersuchungen Heusers (1884) und Rabls (1885). Jedoch waren diese so eingehend und lieferten so überzeugende Resultate, daß man nicht an der Richtigkeit der erwähnten Behauptung zweifeln kann, und kein Zytomorphologe hat es wohl auch getan. Nur Berthold (1886, S. 204) sagt: „In komplizierten Fällen, wo die Äquatorialplatte aus zahlreichen Fadensegmenten besteht, läßt sich wohl absolute Sicherheit hierüber nicht gewinnen, es dürfte auch nicht für alle Fälle ohne weiteres als wahrscheinlich anzunehmen sein".

Heuser (1884) konnte in den großen Kernteilungsfiguren bei *Fritillaria* mit Deutlichkeit nachweisen, daß das sogenannte „Umordnungsstadium" (Metakinese) der Äquatorialplatte darauf beruht, daß die Spalthälften der Chromosomen sich voneinander entfernen, und daß es sehr wahrscheinlich ist, daß die Hälften jedes Chromosoms nach verschiedenen Seiten gehen. Zoologischerseits kam Rabl (1885) zum gleichen Ergebnis, obwohl er die Umordnung in etwas anderer Weise vor sich gehen sah.

Auf die Einzelheiten der erwähnten Angaben wollen wir nicht eingehen. Wir haben in Kap. 1 und 2 eingehende Untersuchungen über diese Stadien mitgeteilt. Die aus guten Gründen gemachte Annahme, daß die Chromosomenhälften durchgehends nach verschiedenen Polen gehen, hat im Laufe der Zeit bedeutend an Sicherheit gewonnen. Man hat die Metakinese und die Zahlenverhältnisse der Chromosomen sehr genau analysiert, und außerdem sind zahlreiche Tatsachen ermittelt worden, die den einzelnen Chromosomen eine viel größere Bedeutung oder Selbständigkeit zu geben scheinen als man früher geglaubt hat. Alles dies macht es möglich, daß man jetzt mit sehr großer Sicherheit sagen kann, daß bei der Karyokinese der höheren Organismen alle Chromosomen so manipulieren, daß die Hälften nach verschiedenen Polen gehen.

Die Lageveränderungen und der Formwechsel der einzelnen Chromosomen in der Metakinese sind sehr mannigfaltig, und besonders

dann natürlich, wenn die Chromosomen lang und schleifenförmig sind (vgl. *Vicia* und *Allium*).

In der Literatur, die auf die erwähnten grundlegenden Arbeiten folgte, findet man eine außerordentliche Menge Angaben über die Gestaltungsverhältnisse der Chromosomen bei dem Auseinanderweichen der Kernplattenhälften. Es scheint mir überflüssig, auf diese speziellen Angaben näher einzugehen. Es leuchtet ein, daß in jeder Zellenart Konstellationen der in der Metakinese zusammenwirkenden Kräfte herrschen, die auch einer Reihe aufeinanderfolgender morphologischer Veränderungen einen bestimmten Charakter geben können. Daher pflegen die Chromosomen derselben Zellenart unter Umständen in den ersten Stadien des Auseinanderweichens charakteristische Figuren zu bilden, die wie $\genfrac{}{}{0pt}{}{\wedge}{\vee}$, $\genfrac{}{}{0pt}{}{\rceil}{\lrcorner}$ usw. aussehen. Eine prinzipielle Bedeutung kommt natürlich diesen Figuren nicht zu, sie lehren aber, daß in der Karyokinese alles so fein ineinander greift und alle einzelnen Vorgänge so besonders abgemessen sind, daß auch scheinbar willkürliche Geschehnisse ein gewisses konstantes Aussehen bekommen. Wir sagen „willkürliche", weil es eben für den Sinn des Vorgangs gleichgültig ist, ob die sich trennenden Tochterchromosomen auf Grund der Adhäsionsverhältnisse usw. diese oder jene Gestalten annehmen. Häufig sind auch diese Gestalten ziemlich wechselnd, wie wir dies z. B. bei *Allium* und *Vicia* gefunden haben.

An denselben Objekten ermittelten wir, daß die Spindelfasern, auch wenn sie zwischen den Polstellen und den Chromosomen verlaufen, morphologisch betrachtet nicht so regelmäßig vorkommen oder in solcher Weise befestigt sind, daß man den Verdacht haben könnte, sie würden wie Bewegungsorgane, wie „Zugfasern" funktionieren. Wir werden in einem folgenden Kapitel (5) näher auf diese in der Literatur häufig figurierenden Verhältnisse eingehen, hier erwähnen wir nur, daß die Gestalten, die die Chromosomen bei dem Auseinanderweichen annehmen, sowie mehrere Angaben über Fadenverbindungen zwischen den Polen und den Chromosomen für folgende Behauptungen sprechen: 1. Daß die Chromosomen eine bedeutende physikalische Selbständigkeit besitzen, indem sie aneinander liegen können, ohne zu verschmelzen; 2. daß ihre Spalthälften nach verschiedenen Seiten gehen, und 3. daß die Chromosomen in dieser oder jener Weise (jedoch nicht so wie die Zugfasertheoretiker behaupten) nach den Polen hin g e z o g e n werden, nicht dahin geschoben werden oder amöbenartig schwimmen. Für Attraktionskräfte zwischen den Chromosomenhälften und den Polen sprechen auch die von verschiedenen Forschern beschriebenen kleinen Höcker oder Warzen an den den Polen am nächsten liegenden Teilen der Tochterchromosomen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß solche Bildungen auch bei der Fixierung entstehen könnten. Sehr skeptisch

muß man sich gegen die Angaben über schöne, wohlausgebildete und regelmäßig vorkommende Spindelfasern verhalten (s. Kap 5.). Vergleichende Untersuchungen vermißt man völlig in der Literatur über diesen Gegenstand. Zumeist scheint man einfach die „schönsten" Bilder, d. h. diejenigen, die mit der Zugfasertheorie am besten übereinstimmen, für die naturgetreuesten gehalten zu haben, und sodann hat man diese speziellen, unrichtigen Befunde generalisiert. In unserer speziellen Darstellung haben wir das Unberechtigte eines solchen Unternehmens hervorgehoben. Wir haben auf dieses Thema wieder in Kapitel 5 zurückzukommen.

§ 5. Anaphase und die früheren Stadien bei der Rekonstruktion der Kerne.

Die Wanderung der Chromosomen nach den Polen ist ein Vorgang, der immer ziemlich schnell abläuft. Zumeist wandern alle Chromosomen in gesammelter Truppe, ausnahmsweise werden wohl einige verspätet (die Fixierung kann nicht selten durch Verklebung der Chromosomenenden eine solche Verspätung vortäuschen; vgl. S. 422). Waren Nukleolen in der Äquatorialplatte vorhanden, so pflegen auch diese sich auf die beiden Polplasmen zu verteilen (vgl. *Cucurbita* und die vorher zitierten Arbeiten von Němec, Wager, Mano).

An den Polen angelangt, schließen sich die Chromosomen beiderseitig zu einem Haufen zusammen. Unter Umständen entstehen ähnliche Anordnungen wie in der Äquatorialplatte, Tochtersterne (Diaster), wie sie von Flemming benannt wurden. Besonders bei den Tieren, die wenig umfangreiche oder als Zentrosomen verkörperlichte Polplasmen besitzen, scheinen Sterngruppierungen zu entstehen. Die Chromosomen weisen, gemäß der Art des Auseinanderweichens (§ 4), V oder J-Form auf, sofern sie nicht kurz oder isodiametrisch sind, in welchem Falle sie gebogene Tochterplatten bilden, die alsdann durch Zusammenziehen ihrer Elemente in mehr kugelige Bildungen übergehen. Überhaupt gehen die Chromosomen ziemlich viel zusammen. Zu einer völligen gegenseitigen Berührung derselben scheint es aber nicht immer zu kommen (vgl. *Allium* und *Vicia*). Dieses Zusammentreten der Chromosomen wurde von Flemming, Rabl, Meves, Bolles, Lee, Hof, van Wisselingh, Němec, Schaffner, Coker, Grégoire et Wygaerts, Kowalski, Grégoire, Bonnevie u. a. beschrieben. Da es aber nicht immer oder vielleicht nicht als Regel zu einer Berührung oder partiellen Verschmelzung der Chromosomen kommt, kann ich Grégoires Auffassung über dieses „tassement polaire" nicht völlig beitreten. Wir haben ja auch gezeigt, daß Grégoires Angaben wenigstens an *Allium Cepa* eine wahrscheinlich durch die Fixierung verursachte Verklumpung betreffen. Ich

hege auch Zweifel über die Naturgetreuheit der neuerdings von Lawson (1903a) und Wager (1904) beschriebenen Fälle, wo die Chromosomen zu einem anfangs homogenen Klumpen verschmelzen sollen. Schon Flemming (1882, S. 239) machte darauf aufmerksam, daß eine solche Verklumpung nur die Folge mangelhafter Fixierung ist, denn er sah solche Figuren um so häufiger, „je weniger gut es überhaupt mit der Konservation der Kernfiguren bestellt“ war. Ganz ähnliche Beobachtungen habe ich selbst gemacht.

Wieweit sich die Chromosomen in der polaren Anhäufung nähern, dürfte je nach der Zellenart, Chromosomenart und anderen hierbei in Betracht kommenden Verhältnissen wechseln, und natürlich kann nicht prinzipiell ein völliges Aneinanderlegen der Chromosomen und eine teilweise Verklebung derselben geleugnet werden, obwohl etwas ähnliches noch nicht (für höhere Organismen) einwandsfrei beobachtet worden ist. Grégoire will bekanntlich durch seine Deutung der polaren Anhäufung eine Erklärung der später auftretenden Anastomosen zwischen den Chromosomen schaffen, diese scheinen mir aber in einfacherer und generellerer Weise durch die Vakuolisierung, Auflösung und physikalische Zerkleinerung derselben verständlich zu werden, obwohl natürlich unter Umständen reine Verklebungen und sekundäre Ausziehungen bei dem Entfernen der Chromosomen voneinander nach der Membranbildung hierbei eine Rolle spielen könnten (vgl. 1912c).

Wie sich die Chromosomen in der Metakinese fortwährend verkürzen und verdicken, machen sie es auch in der Anaphase, etwas, was schon Flemming (1882, S. 236) beobachtet hat.

Nachdem die Chromosomen einen mehr oder weniger dichten Haufen an den Polen gebildet haben, entfernen sie sich wieder ein wenig voneinander, beginnen sich aufzulockern, und alsdann wird eine Kernmembran angelegt.

Die neugebildeten Kerne weisen zumeist ein rasches Wachstum auf, was schon von Flemming, Strasburger, Heuser u. a. beobachtet wurde. Die Chromosomen anastomosieren immer mehr und verteilen ihre Substanz gleichmäßig in der Kernhöhle. Teils wegen der Kleinheit der Kerne im Vergleich mit solchen in Prophase, teils wegen der Schwierigkeiten der Fixierung ist es manchmal schwierig, einen guten Einblick in die bei der Rekonstruktion der Kerne stattfindenden Strukturveränderungen der Chromosomen zu gewinnen.

Das Tochterspirem. Gegenstand fast ebenso lebhafter Kontroverse wie die Zusammensetzung des Prophasespirems ist die Frage gewesen, ob in der Telophase ein kontinuierliches Spirem gebildet wird oder nicht (vgl. 1912c).

Flemming hat in seinem Zellenbuche in Textfig. K auf S. 205 zwei Tochterkerne aus einer platten Bindegewebezelle einer Larve

von *Salamandra* abgebildet, worin die Chromosomen wegen der platten Gestalt der Kerne besonders deutlich unterschieden werden können. Man sieht hier deutlich, daß getrennte Fadenstücke vorhanden sind.

Auch Rabl (1885, S. 28 f.) gibt an, daß die Fäden in den Tochterkernen nicht an ihren freien Enden in Verbindung treten[1]. Er hat in lockeren Tochterknäueln mehrmals etwa ebensoviele Fadenstücke wie in der Metaphase zählen können (24 bei *Salamandra*).

Flemming (1882, S. 242) findet aber in anderen Fällen die Fäden vielfach auf so lange Strecken ununterbrochen verlaufend, daß er in Übereinstimmung mit Retzius (1881) annimmt, daß die „Fadensegmente in den Knäueln sich größtenteils durch Verschmelzung der Enden, vielleicht auch durch Zusammenschmelzung an Kreuzungsstellen, miteinander vereinigen mögen". Kontinuierliche Tochterknäuel wurden botanischerseits von vielen Forschern, u. a. Strasburger, Heuser, Guignard und Mottier, angenommen.

Dagegen verteidigten in neuerer Zeit besonders Grégoire und seine Schüler Wygaerts, Martins Mano, Kowalski, Berghs in vielen Arbeiten die Selbständigkeit der Tochterchromosomen oder mit andern Worten ein diskontinuierliches Tochterspirem.

Unsere eigenen Untersuchungen scheinen auch in derselben Richtung wie die Befunde Grégoires zu sprechen (vgl. Kap. 1, 2), und wir konnten nachweisen, daß die gegenteiligen Angaben Němecs, Hofs, Hottes, Schrammens nicht mit den tatsächlichen Verhältnissen übereinstimmen.

Wir konnten auch nachweisen, daß unter der Einwirkung der Fixierungsmittel leicht Verklebungen der Chromosomen eintreten, die Endverbindungen vortäuschen können. Oben erwähnten wir, daß die Chromosomen in der polaren Anhäufung unter ähnlichen Verhältnissen mehr oder weniger verschmelzen können. Strasburger (1880)[2] beobachtete in den jungen Tochterkernen ein Verkleben der Kernfäden an der Polseite. Flemming (1882, S. 237, 239) stellt aber mit Recht diese Angabe in Abrede und erklärt sie aus der „quellenden" Wirkung der Fixierungsmittel. Auch in sonst ziemlich gut fixierten Präparaten dürften bis zu einem geringeren Grade Verklebungen stattgefunden haben, die den Beobachter täuschen können.

Quersegmentierung der Tochterchromosomen. Bei *Vicia* und besonders bei *Allium* machten wir die Beobachtung, daß die Chromosomen in der Anaphase und manchmal schon früher quer-

[1] In ähnlicher Weise äußert sich Boveri (1887).

[2] In neuerer Zeit wurde ein Zusammentreten der Kernfäden an der Polseite des Kerns in fixierten Präparaten von van Wisselingh (1899, S. 170) beobachtet.

segmentiert werden, so daß in die neuen Kerne mehrere Chromosomenfragmente einzutreten pflegen (vgl. Textfig. 3k). In der Literatur findet man wohl hie und da Angaben über ähnliche Fragmentationen der Chromosomen, nähere Untersuchungen hierüber sind aber bisher nicht angestellt worden. Flemming (1882, S. 236) äußert sich hierüber in einer Weise, die mit dem von uns Gesagten (S. 395) gut übereinstimmt. „Man findet ausnahmsweise", sagt er, „in den Äquatorialplatten einzelne Segmente, die viel kürzer sind, als alle übrigen". „Jedenfalls ist dies nichts Reguläres" — sagt Flemming in der Fortsetzung — „man muß es möglich lassen, daß es sich dabei wirklich um vitale Abtrennung kleinerer Segmente handelt, wahrscheinlicher ist es mir aber, daß die Sache auf einer künstlichen Zerfällung durch die fixierenden Reagentien beruht". In engeren Knäuelformen erscheint es Flemming als möglich, daß Trennungen der Schleifen an ihren Winkeln vor sich gehen[1]).

Ob es sich bei den Fragmentierungen wirklich um vitale Erscheinungen handelt, ist in der Tat recht schwierig zu entscheiden. Ich habe zwar solche Trennungen im lebenden Material beobachtet, (1912b), es ist aber nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um durch den Schnitt usw. hervorgerufene abnorme Erscheinungen gehandelt hat (vgl. 1912b, S. 251). Andererseits werden Quersegmentierungen so häufig an in verschiedener Weise fixierten Präparaten beobachtet, daß ich nicht umhin kann, sie wenigstens z. T. für präformiert zu halten (vgl. S. 396). Für die Präformation der Querspalten spricht auch der Umstand, daß man solche selten in den Stadien vor der Äquatorialplattenbildung sieht, obwohl die Chromosomen hier dünner sind als in der Anaphase.

Die Tatsache, daß Fragmentierungen der Chromosomen eintreten, nachdem sie aus dem Mutterkern ausgetreten sind, ist in theoretischer Hinsicht interessant, weil dabei angenommen werden muß, daß die Faktoren, die die Konstanz der Chromosomenzahl bewirken, wesentlich andere und in der Organisation des Kerns tiefer begründet sind, als was von den Forschern behauptet wird, die die morphologische Selbständigkeit und Kontinuität der Chromosomen als den einzigen hierfür in Betracht kommenden Umstand betrachten (vgl. S. 430).

Gestalt und Anordnung der Tochterchromosomen. Sind die Chromosomen langgestreckt, so nehmen sie in der Anaphase, wie

---

[1]) a. a. O. 1882, S. 237. In der Anaphase der zweiten Reifungsteilung haben Belajeff, Ishikava, Atkinson und Andrews eine transversale Spaltung jedes Tochterchromosoms beobachtet (zitiert nach Grégoire, Les résultats acquis sur les cinèses de maturation. La Cellule, T. 21, S. 236, 239 ff.).

oben gesagt, V- oder J-Form an und sind in der „polaren Anhäufung“ zumeist alle übereinstimmend orientiert, indem sie die freien Enden nach der äquatorialen Zone kehren. Diese Orientierung behalten sie auch nach der Anlage der Kernwandung, so daß die sich auflösenden und auflockernden Chromosomenschlingen häufig eine charakteristische Anordnung bekommen.

Eine charakteristische Orientierung der Telophasechromosomen wird nur in Fällen wahrgenommen, wo die Chromosomen langgestreckt sind. Sind sie dagegen kurz (isodiametrisch), so bilden sie nur einen Haufen ohne bestimmte gegenseitige Orientierung.

Interessante Lokalisationsverhältnisse findet man bei Zellen mit sowohl kurzen wie langen Chromosomen. In der Äquatorialplatte pflegen die kleinen Chromosomen die Mitte einzunehmen, während die langen Chromosomen an der Peripherie eine radiäre Anordnung annehmen (Strasburger 1900, 1905; Miyake 1905; Müller 1909). In der Anaphase wandern die kleinen Chromosomen schneller und kommen daher am meisten an der Polseite (vgl. Müller 1909, Fig. 42, 47—56) zu liegen. Ähnliche Beobachtungen machte zoologischerseits Moenkhaus (1904) in Bastarden zwischen *Fundulus* und *Menidia*. In allen Fällen bleibt diese Anordnung der Chromosomen in den Tochterkernen ziemlich lange erhalten, und die übereinstimmende Lage der sich herausdifferenzierenden Prophasechromosomen kann vielleicht bei schnell aufeinanderfolgenden Teilungen hierauf beruhen (vgl. Kap. 6).

Positive Angaben über mangelnde Orientierung der Chromosomen in den Tochterkernen sind spärlich. Bemerkt sei hier nur, daß Grégoire und Wygaerts (1903, S. 30, 58, Fig. 3, 4) bei *Trillium* keine ausgesprochene Polarität der Tochterkerne gefunden haben. — Bei der zweiten Teilung der Pollenmutterzellen dieser Pflanze wurden Karyomeren beobachtet. Karyomerenbildung trifft man häufiger unter niederen Tieren an (bes. in Eiern von Würmern und Mollusken). Mit Karyomeren meint man bekanntlich Kleinkerne, die aus einzelnen Chromosomen entstehen und die sich später zu einem einzigen Kern vereinigen. Neuerdings beobachtete Němec (1910, S. 175) Karyomeren bei der Kernteilung von *Chara fragilis*. Es leuchtet ein, daß in diesen Fällen keine besondere Orientierung der Schleifen in den sich rekonstruierenden Kernen entsteht.

Die Karyomerenbildung kann als ein Spezialfall der Kernbildung betrachtet werden, der wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß die Chromosomen nicht hinreichend dicht zusammentreten. Auf ähnlichen Verhältnissen, obwohl sie hier weniger ausgeprägt sind, dürfte es beruhen, daß die Kerne bei *Allium* anfangs Aussackungen besitzen, die dadurch entstanden sind, daß sich die frei auseinander-

spreizenden Chromosomenenden frühzeitig mit einer Membran umgeben haben.

Überhaupt muß die anfängliche Form der neuen Kerne etwa derjenigen des vorherigen Tochterchromosomenhaufens entsprechen, und daher sind Kerne mit kurzen Chromosomen von Anfang an ziemlich glatt, während solche, die sich aus langen und äquatorialwärts auseinanderspreizenden Chromosomen aufbauen, anfangs entsprechend unregelmäßig sind. Nachdem sich der Chromosomenhaufen mit einer Membran umgeben hat, wird der osmotische Druck in der Kernhöhlung erhöht und die Membran demgemäß ausgespannt, wobei die anfänglichen Aussackungen und Unregelmäßigkeiten verschwinden. Letzteres kann natürlich schneller oder langsamer vor sich gehen, je nach der Schnelligkeit, womit osmotisch wirksame Stoffe produziert werden. Auch dürfte die Zähigkeit der Kernsubstanzen, namentlich der Kerngrundflüssigkeit, hierbei von Bedeutung sein. Bei *Allium* werden die die Chromosomenenden kennzeichnenden Aussackungen länger erhalten als bei *Vicia*, und bei gewissen Kernen, wie z. B. in den Blastomeren von *Ascaris,* sind sie so stabil, daß sie die ganze Interphase überdauern (Boveri 1887, 1909a).

Kapitel 4. Das Verhalten der Nukleolen während der Kernteilung.

Dieser Punkt hat um sich eine große Anzahl Angaben gesammelt, die z. T. einander recht widersprechend sind.

Die widerstreitenden Angaben scheinen mir teils mit dem Mangel eines guten Kriteriums auf Nukleolarsubstanz, teils mit der verschiedenen Art der Untersuchung zusammenzuhängen.

Die Merkmale der Nukleolarsubstanz sind zwar z. T. chemisch, meistens muß man sich aber mit morphologischen oder physikalischen Kennzeichen begnügen, da mikrochemische Untersuchungen noch nicht an Material ausgeführt werden können, das mit gebräuchlichen Fixierungsmitteln fixiert wurde, in dem also die Strukturen am besten erhalten sind.

Morphologisch-physikalisch zeichnet sich die Nukleolarsubstanz dadurch aus, daß sie zumeist in runden Tropfen auftritt. Man kann die Nukleolen auf Grund dieser Eigenschaft zumeist von den nichtrunden Karyosomen unterscheiden (vgl. 1912c). Bisweilen und besonders bei mangelhafter Fixierung werden sie aber entstellt, verklebt usw., und es kann dann schwierig sein, sie von den Karyotinstrukturen zu unterscheiden. Färbungsverhältnisse lassen sich in der Regel nicht benutzen, um Nukleolarsubstanz und Karyotin voneinander zu unterscheiden.

Die meisten fehlerhaften und widerstreitenden Angaben scheinen mir darauf zurückzuführen zu sein, daß man die benachteiligende Wirkung der Fixierungsmittel nicht gebührend berücksichtigt hat. Vergleichende Untersuchungen sind in dieser Hinsicht vorher nicht angestellt worden.

In der Tat sind die Nukleolen schwierig zu fixieren. Sie werden viel leichter deformiert als die Karyotinklumpen. Sie sind auch leichtflüssiger als diese, und bei ihrer Fixierung hat man daher ähnliche Deformationen zu befürchten, wie ich (1910b) es bei den Leukoplasten beobachtet habe. Gemäß ihrer leichtflüssigen Konsistenz kontrahieren sie sich bei der Gerinnung ziemlich viel. Sie können fädig ausgezogen werden, und sie werden leicht miteinander oder mit den Karyotinstrukturen verklebt. Haben sie im Leben eine amöbenähnliche Gestalt, wie es in der Prophase der Fall ist (Kap. 1, 2), so wird diese fast niemals erhalten, sondern die Nukleolen treten nach der Fixierung wie mehr oder weniger glatte Bildungen hervor (S. 401).

In den Anfängen der Kernforschung (vgl. z. B. Klein 1878, S. 315; Strasburger 1880; Retzius 1881, S. 135) verstand man im allgemeinen unter Nukleolen alle Klumpen in dem Kern. Flemming (1879) erkannte aber schon 1879, daß man es unter diesen mit zwei verschiedenartigen Bildungen zu tun hat. Nur gewisse, besonders charakterisierte Körper sollten mit dem Namen Nukleolus belegt werden. Man sieht bei Flemming (1882, S. 138 ff.) die Schwierigkeiten, aber auch die Notwendigkeit, einen solchen Unterschied zu machen. In derselben Richtung wie Flemming sprachen sich Rabl (1885) und spätere Forscher aus. Wir wollen aber die zoologische Literatur über Nukleolen[1]) nicht weiter verfolgen, weil darin Dinge figurieren, die man bei den höheren Pflanzen nicht wiederfindet. Es ist wohl aber wahrscheinlich, daß unsere Ergebnisse über die leichte Deformation usw. der Nukleolen sich auch auf die entsprechenden zoologischen Bildungen übertragen lassen. —

Eine erste Streitfrage in der botanischen Literatur ist diese gewesen, ob der Nukleolus mittels Fäden oder feiner Fortsätze mit dem Gerüstwerk zusammenhängt, oder ob er darin völlig isoliert liegt. Es will mir scheinen, daß beide diese Modalitäten vorkommen können. Man kann an lebendem Material beobachten, daß die Oberfläche des Nukleolus in ruhenden Kernen fein gezackt ist, weil das Gerüstwerk ihn dicht umgibt, und in der Prophase kann man sowohl freiliegende Nukleolen, wie solche, die mittels Fäden mit den Kernfäden zusammenhängen, beobachten (1912b). An der Hand von fixierten Präparaten soll diese Frage nicht beurteilt werden, weil bei der Fixierung das

[1]) Vgl. Häcker (1899) und Montgomery (1899).

Gerüst alteriert wird, der Nukleolus sich zusammenzieht und Verklebungen entstehen können, die Fadenverbindungen vortäuschen. Die Höfe, die häufig um die Nukleolen in fixierten Präparaten ausgebildet sind, kommen viel seltener im Leben vor (vgl. 1912b, S. 239, 256). In der Literatur findet man Angaben sowohl über isolierte Nukleolen[1]), wie über solche, die mit dem Karyotingerüst in irgend einer Weise morphologisch verbunden sind[2]). Diesen Angaben kommt aber nur eine nebensächliche Bedeutung zu, weil sie ausschließlich an fixiertem Material ermittelt worden sind.

Eigenartige Nukleolen hat P. Cavara (1897, 1898, 1899, 1902) bei Pflanzen beobachtet. Nach ihm sollen sie aus einem Kern von „Plastin" und einer Rindenschicht von „Chromatin" bestehen. B. Longo (1900) behauptet aber, daß die von Cavara beschriebenen Nukleolen nur hohle, daher im Innern heller erscheinende, im übrigen aber nur aus der gewöhnlichen Nukleolarsubstanz bestehende Bildungen gewesen sind. Ähnliche Nukleolen hat Charles F. Hottes[3]) bei *Vicia Faba* in Wurzelspitzen, die bei niedrigen Temperaturen gewachsen waren, gesehen. „Um den vergrößerten Nukleolus ballt sich alsdann das Chromatinnetz des Kerns oft zu einer Hülle zusammen. Nicht selten wird unter diesen Bedingungen ein Teil der Nukleolarsubstanz als besonderer Nukleolus, von einer solchen netzartigen Chromatinhülle umgeben, aus dem Kern herausgedrängt". Einen mutmaßlich ähnlichen Fall habe ich in Textfig. 1d aus einem Flemmingpräparat einer normal gewachsenen Wurzel abgebildet. Ich vermute, daß es sich hier um ein Fixierungsartefakt handelt. Bei *Vicia* habe ich ebenfalls ähnliche ausgehöhlte Nukleolen wie die von Cavara beschriebenen beobachtet (vgl. 1912c). Sofern sie nicht Artefakte sind, kann man wohl diese Nukleolen für einen Spezialfall der mit großen Vakuolen versehenen betrachten. In zoologischen Objekten (z. B. Eiern von Echinodermen) kommen „Amphinukleolen" oder „Mischnukleolen" vor, die aus zwei Substanzen bestehen, wovon die eine als Kalotte oder Hohlsphäre die andere umgibt. Bei Pflanzen sind ähnliche Bildungen nicht beschrieben worden, sofern nicht die von Cavara erwähnten solche wären.

Die meisten und auch die widerstreitendsten Angaben betreffen das Verhalten der Nukleolen bei der Karyokinese. Betrachten wir zuerst diejenigen, die eine direkte Beteiligung der Nukleolarsubstanz an der Chromosomenbildung beweisen wollen.

Man hat sich hier auf zweierlei Erscheinungen berufen: 1. daß

[1]) Vgl. z. B. Rosen (1894); Zimmermann (1896).

[2]) Strasburger (1880); Heuser (1884); Wager (1904).

[3]) Zitiert nach Strasburger 1900, S. 138.

in den Präparaten der Nukleolus nicht selten mit den Chromosomen morphologisch verbunden ist, und 2., daß die Menge der Nukleolarsubstanz häufig in der Prophase abnimmt, gleichzeitig damit, daß die Chromosomen anwachsen.

Heuser[1]) beobachtete, daß die Nukleolen im Wandbelag des Embryosacks von *Fritillaria imperialis* mit den Kernfäden in Verbindung stehen, „indem sie durch schnabelartige Fortsätze in dieselben überfließen". Strasburger[2]) beobachtete bei *Galanthus nivalis*, daß Substanzteile des Nukleolus den Kernfäden anhafteten. Er war jedoch nicht geneigt, eine direkte Aufnahme der Nukleolarsubstanz seitens der Kernfäden anzunehmen. F. Went (1887) widmete den Beziehungen zwischen Nukleolen und Kernfäden eine besondere Aufmerksamkeit, und er läßt die Substanz des Kernkörperchens direkt von den Fäden aufgenommen werden. Zimmermann (1896, S. 68) hat im Embryosackwandbelag von *Lilium Martagon* nach Fixierung mit CrO_3 und $PtCl_2$ und Färbung mit Fuchsin-Jodgrün in den Endstadien des Spirems beobachtet, wie „einzelne rote Kugeln, die außerdem auch in großer Zahl in der Umgebung der betreffenden Kerne beobachtet wurden, den violett gefärbten Chromosomen teils seitlich ansaßen, teils auch ganz von denselben aufgenommen waren". Neuerdings hat Wager (1904) in Präparaten von *Phaseolus* Verbindungen zwischen Nukleolus und Chromosomen in der Prophase gesehen, und er deutet sie in derselben Weise wie Heuser, Went u. a. Mano (1904), der später *Phaseolus* untersuchte, konnte aber nicht Wagers Befunde betätigen. Er findet keine Verbindungen zwischen Nukleolus und Chromosomen. — Zoologischerseits nehmen u. a. O. Hertwig (1893), Reinke (1894), Czermak (1899) und neuerdings u. a. Janicki (1903), Blackmann (1905), Günther (1903, 1904) genetische Beziehungen zwischen Nukleolus und Chromosomen an.

Betreffs des Werts dieser Angaben über morphologische Beziehungen zwischen Nukleolus und Chromosomen soll bemerkt werden, daß sie ausschließlich an der Hand fixierten Materials gemacht sind. Und die Verfasser scheinen dabei zumeist keine vergleichenden Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Fixierungsflüssigkeiten angestellt zu haben. Es erscheint mir daher nicht unberechtigt, unsere eigenen, durch vergleichende Untersuchungen gewonnenen Erfahrungen auf diese Angaben zu übertragen.

Im Leben habe ich bei *Allium* und *Vicia* wohl dünne Fadenverbindungen zwischen den Nukleolen und dem Gerüst oder den Spiremfäden konstatieren können, dagegen habe ich niemals „schnabelartige" Fortsätze u. dgl. beobachtet (1912b, S. 239, 249, 256). Solche Fort-

[1]) 1884, S. 58, Fig. 5—7, Taf. I. [2]) 1884, S. 23, Fig. 46, 47, Taf. II.

sätze und andersartige Verklebungen zwischen dem Nukleolus und dem Spirem habe ich dagegen in fixierten Präparaten (409) und, was besonders wichtig ist, vorwiegend in schlecht fixierten Präparaten beobachtet. Bei *Allium* sahen wir bei Flemmingfixierung niemals solche Verbindungen zwischen Nukleolus und Chromosomen, dagegen nach derselben Behandlung bei *Vicia* (vgl. z. B. Fig. 17, Taf. XII), was sicher damit zusammenhängt, daß die Wurzeln bei *Vicia* im allgemeinen schwieriger zu fixieren sind als diejenigen von *Allium*. Man bemerkt auch, daß in Kernen, wo solche artifizielle Verbindungen und Verklebungen beobachtet werden, die Chromosomen auch mehr oder weniger alteriert sind. Die dünnen Fäden, in denen die Nukleolen zuweilen aufgehängt sind, können kaum als Beweise einer genetischen Beziehung zwischen dem Nukleolus und den Chromosomen angeführt werden, denn außerdem, daß sie nicht immer oder vielleicht nur ausnahmsweise vorkommen, scheinen sie kaum Fortsätze der Nukleolarsubstanz selbst vorzustellen. Die Pseudopodien der Prophasenukleolen sind immer breit und stumpf. Die dünnen Fäden scheinen eher aus einer anderen, unbekannten Substanz zu bestehen, die als dünne Hülle den Nukleolus umgäbe. Aber auch wenn dies nicht der Fall wäre, ließen sich die Fäden leicht so erklären, daß der anfangs in dem Gerüst dicht eingebettete Nukleolus an einzelnen Stellen an Teile des Gerüsts adhäriert, so daß bei der in der Prophase stattfindenden Zusammenziehung des Karyotins die Nukleolarsubstanz (die leichtflüssiger als das Karyotin ist) an diesen Stellen fadenartig ausgezogen wird.

Nach dem Gesagten finde ich es berechtigt, daß wir uns, bis eingehendere Untersuchungen vorliegen, ablehnend gegen die oben zitierten Angaben über morphogenetische Beziehungen zwischen dem Nukleolus und den Chromosomen stellen.

Infolge der mangelhaften Untersuchungsmethoden, die man bei dem Studium der leicht alterierten Nukleolen benutzt hat, vermißt man in der Literatur fast überall solche Angaben über das Verhalten dieser Körper in der Prophase, die mit den von uns ermittelten Tatsachen übereinstimmen. Wir haben ja gefunden, daß der Nukleolus in der Prophase immer bedeutende amöboide Formveränderungen aufweist (1912b, S. 248, 258), und der Umstand, daß sich zwei sonst so verschiedenartige Objekte wie *Allium Cepa* und *Vicia Faba* in dieser Hinsicht übereinstimmend verhalten, scheint darauf hinzudeuten, daß wir es hier mit einer allgemeinen und weit verbreiteten Erscheinung zu tun haben. Zacharias, der, soweit ich finden kann, der einzige Forscher ist, der die Veränderungen des Nukleolus in der Prophase an lebendem Material verfolgt hat, kommt auch zu ähnlichen Resultaten wie wir. Als Untersuchungsmaterial benutzte er Rhizoiden von

Chara. Die teilungsfähigen Rhizoidzellen dieser Pflanze besitzen je einen Kern mit sehr großem Nukleolus. „Naht die Kernteilung heran", — schreibt Zacharias (1885, Sp. 279, vgl. 1902, S. 320) — „so verliert der Nukleolus an Deutlichkeit, er erfährt langsame Gestaltsveränderungen, die schließlich einen amöboiden Charakter annehmen". Schließlich verschwindet er ganz. Auch in Pollenmutterzellen von *Larix* hat Zacharias amöboide Formveränderungen des Nukleolus beobachtet.

Die Bedeutung dieser Formveränderungen des Nukleolus scheint mir ziemlich klar zu sein. Sie deuten auf erhöhte stoffliche Beziehungen (erhöhten Stoffaustausch) zwischen dem Nukleolus und dem Kernsaft hin, und das Undeutlichwerden und der später eintretende Zerfall des Nukleolus spricht unzweifelhaft für die Behauptung, daß diese erhöhten Beziehungen auf ein Auflösen, ein Entfernen der Nukleolarsubstanz hinarbeiten.

Der Auflösungsvorgang kann längere oder kürzere Zeit dauern, je nach der Größe der Nukleolen und den sonst in jeder Zellenart herrschenden inneren Bedingungen. In gewissen Fällen dürfte also die Auflösung schon zur Zeit der Membranauflösung beendigt sein, in anderen Fällen werden die Nukleolen oder Fragmente derselben länger erhalten, und sie wandern alsdann nach der Membranauflösung in das Plasma hinaus (vgl. 1912b, S. 250 und Textfig. 2b). Besonders lange werden die Nukleolen natürlich bei Kernen mit viel Nukleolarsubstanz (wie bei *Cucurbita* Fig. 58, 59, Taf. XIV) erhalten.

Lassen sich, wie oben erwähnt, die Gestaltsveränderungen des Nukleolus nicht an in gebräuchlicher Weise konserviertem Material verfolgen, so kann man doch an solchem eine gewisse Vorstellung über den Grad der Auflösung der Nukleolarsubstanz bekommen.

Ein allmähliches Verschwinden der Nukleolen haben somit Flemming (1882, S. 201), Strasburger (1882, 1884), Guignard (1885), Belajeff (1894), van Wisselingh (1899) u. a. beobachtet. Über den Zeitpunkt des völligen Verschwindens derselben machen die Verfasser verschiedene Angaben. Flemming (1882, S. 201) und Strasburger (1888, S. 136 ff.) fanden, daß die Nukleolen schon im Knäuelstadium verschwinden, Zacharias (1885) und Belajeff (1894) geben an, daß der völlige Schwund erst nach der Membranauflösung stattfindet.

Nach Korschelt (1895) vergrößert sich der Nukleolus in der Prophase, im Spiremstadium ist er umfangreich mit gleichmäßig wabiger Struktur. Alsdann wird er aufgelöst. Er liegt jedoch in dem Kernsaft noch zu dem Zeitpunkt, wo die Sphären zu strahlen beginnen. Nach Häcker (1895) liegen Nukleolen noch im Kernsaft, wenn die Chromosomen völlig ausgebildet sind.

Wiederum andere Verfasser nehmen eine längere Erhaltung oder völlige Persistenz der ausgetretenen Nukleolenfragmente (der extranuklearen Nukleolen) an. Eine Persistenz der Nukleolen und eine Ausstoßung derselben in das Plasma wurde zuerst von Tangl (1888) in Pollenmutterzellen von *Hemerocallis fulva* beobachtet. Besonders hat aber Zimmermann (1893) nach extranuklearen Nukleolen gesucht. Er stellte bekanntlich den Satz auf, daß die ausgetretenen Nukleolen eine hohe Selbständigkeit hätten, so daß sie sich in der Anaphase wieder in die Tochterkerne versammeln würden. Einige Jahre später verließ er aber (1896, S. 64) diese Hypothese. Das Auftreten extranuklearer Nukleolen bei gewissen Pflanzen ist jedoch eine festgestellte Tatsache[1]). Ein Austreten der Nukleolen wurde von Farmer in den Pollenmutterzellen von *Lilium Martagon* nachgewiesen. Bei *Solanum* wird nach Martins Mano der große Nukleolus niemals in der Prophase aufgelöst. Er verhält sich übrigens etwa ebenso wie der große Nukleolus von *Cucurbita*. Er wandert folglich in das Plasma hinaus und persistiert hier (in Fragmenten) längere Zeit.

Schon a priori kann man die oben gemachte Behauptung aufstellen, daß die Nukleolen bei verschiedenen Pflanzen zu verschiedener Zeit aufgelöst werden, und die oben zitierten Angaben bestätigen anscheinend diese Behauptung. Jedoch ist eine gewisse Vorsicht bei der Verwendung der in der Literatur vorfindlichen Angaben geboten. Unsere eigenen Untersuchungen haben ja gelehrt, daß die Nukleolarsubstanz unter Umständen bei der Fixierung aufgelöst werden kann. Besonders scheint dies für die extranuklearen Nukleolen zu gelten (vgl. S. 401, 410).

Worauf die Auflösung beruht, kann nicht sicher gesagt werden. Entweder wird sie durch Komponente der Fixierungsflüssigkeit selbst[2]) oder auch durch intrazelluläre Enzyme verursacht. Tatsache ist, daß nur gewisse Flüssigkeiten, wie Merkel, $PtCl_2$ u. a., die extranuklearen Nukleolen erhalten. Flemming und Hermann z. B. sind in dieser Hinsicht ziemlich unzuverlässig. Da besonders die Flemmingsche Flüssigkeit häufig benutzt wird, versteht man, daß die Angaben in der Literatur, die sich auf das Fehlen extranuklearer Nukleolen beziehen, zumeist nicht einwandfrei sind. — Die noch innerhalb der Kernwandung eingeschlossenen Nukleolen scheinen dagegen sonderbarerweise viel widerstandsfähiger gegen die abnorme auf-

---

[1]) Die Behauptung Humphreys (1894, S. 108), daß die extranuklearen Nukleolen Kunstprodukte wären, ist schlecht begründet. Auch kann ich nicht Hottes (1901) Ansicht beitreten, daß ebendieselben Bildungen Niederschlagsprodukte gelöster und aus dem Kern herausdiffundierter Nukleolarsubstanz wären. Ich habe den Austrittsvorgang selbst beobachten können (1912b, S. 250).

[2]) Vgl. Lundegårdh 1910b, S. 345.

lösende Wirkung vieler Fixierungsmittel zu sein. Vielleicht hängt dies mit einer Art Schutzwirkung der Kernmembran zusammen. Die Möglichkeit läßt sich aber nicht ausschließen, daß die Nukleolen in der Prophase eine chemische Veränderung erfahren, die sie auch seitens der Fixierungsflüssigkeiten leichter auflösbar macht, sofern nun nicht im Plasma ein nukleolenlösendes Enzym (eine „Nukleolase") produziert würde. Hier ist ein Feld für neue Untersuchungen.

Die allmähliche Auflösung der Nukleolarsubstanz in der Prophase wurde von mehreren Verfassern in der Richtung gedeutet, daß sie als Baumaterial der Chromosomen dienten. Daß keine morphogenetischen Beziehungen zwischen Nukleolus und Chromosomen herrschen oder nachgewiesen worden sind, haben wir oben auseinandergesetzt. Es wäre völlig willkürlich, nur aus einer zeitlichen Koinzidenz der Vorgänge des Chromosomenwachstums und Nukleolenverschwindens morphogenetische Beziehungen zwischen diesen Bildungen zu folgern. Dagegen kann diese Koinzidenz selbstverständlich ein Argument für stoffliche oder energetische Beziehungen zwischen Nukleolen und Chromosomen sein. Besonders stark ist dieses Argument allerdings nicht. Denn die Kernteilung ist eine Folge zyklischer Veränderungen in dem Stoffwechsel der Zelle (siehe Kap. 6), und dabei werden natürlich mehrere einzelne Vorgänge koordiniert, ohne daß man eine direkte Abhängigkeit derselben voneinander behaupten kann. Ich selbst kann keine näheren stofflichen Beziehungen zwischen Nukleolen und Chromosomen bei dem Wachstum der letzteren annehmen. Allem Anschein nach ist der Besitz von Nukleolarsubstanz für den Kern nicht besonders vorteilhaft, sonst würde sie wohl nicht bei jeder Kernteilung entfernt.

Unter den vielen Hypothesen über die Bedeutung der Nukleolarsubstanz finde ich daher die sog. Kernsekrettheorie Häckers (1895, 1899) am wahrscheinlichsten. Ziemlich apokryphisch erscheint mir dagegen die von Pfitzner, Guignard, Strasburger, Went, Farmer, Sargent, Andrews u. a. verfochtene Hypothese, daß die Nukleolen ein „Ernährungsmittel", einen Reservestoff für die Chromosomen darstellen würden. Völlig willkürlich ist auch die Behauptung, die von Strasburger, Debski, Czermak, Němec u. a. aufgestellt wurde, daß die Nukleolen bei ihrer Auflösung zu den Spindelfäden Entstehung gäben. Auch hier stützt man sich vornehmlich auf „indirektes Beweismaterial", nämlich „den Schwund der Nukleoden zur Zeit der Spindelbildung" (Strasburger 1900, S. 125). Eine eigentümliche, der Strasburgerschen verwandte Auffassung wurde von Carnoy und Grégoire (1899) vertreten.

Überhaupt fehlt es nicht an Ansichten über die Bedeutung der Nukleolen, während die wirklich ermittelten Tatsachen ziemlich spär-

lich und — nach dem oben Auseinandergesetzten — auch zumeist recht unsicher sind. Alle diese mehr oder weniger lose begründeten Ansichten hier vorzuführen und ihren Wert zu bestimmen, wäre aber ein wenig erfreuliches Unternehmen.

Was aus den aufgelösten oder in der Metaphase ausgewanderten Nukleolen wird, wissen wir garnicht. Es bleibt noch zu untersuchen[1]). So viel können wir aber sagen, daß die Nukleolen als morphologische Bildungen verschwinden. Bei kleiner Masse und großer Auflösungsgeschwindigkeit geschieht dies früher, eventuell schon in der Prophase, bei großer Masse oder geringerer Auflösungsgeschwindigkeit werden sie erst nach der Membranauflösung desorganisiert. In der Metaphase kann man unter Umständen kleine Nukleolenfragmente zwischen den Chromosomen beobachten (vgl. Fig. 38, 41, Taf. XIII). Zimmermanns oben zitierte Angaben, daß morphologische Beziehungen hierbei vorhanden wären, kann ich für mein Material nicht bestätigen. Färbungsverhältnisse, die man auch in erwähnter Hinsicht herangezogen hat, können natürlich nichts entscheiden (vgl. 1912a). Bei besonders großen Nukleolen, wie bei *Solanum* und *Cucurbita*, können diese in der Äquatorialplatte durchschnürt werden, und die Spalthälfte alsdann nach verschiedenen Polen wandern, somit „Pseudozentrosomen" darstellend. Wie Mano (1904) an *Solanum* und ich an *Cucurbita* (vgl. Kap. II) haben feststellen können, verschwinden aber auch diese Nukleolen zuletzt, so daß also, nachdem auch Zimmermann seine früheren Anschauungen verbessert hat, keine Belege für ein funktionelles Einwandern der extranuklearen Nukleolen in die Tochterkerne existieren.

Wie der Zeitpunkt des Verschwindens der Nukleolen bei verschiedenen Pflanzen wechselt und ein Schwanken hierbei überhaupt keine prinzipielle Bedeutung haben kann, kommen wohl auch mutmaßlich Variationen der Auflösungszeit bei wechselnden äußeren Bedingungen vor. In dieser Richtung hat sich Rosen (1894, S. 22) geäußert, und Hottes (1901, S. 20) erwähnt, daß er durch unveröffentlichte Experimente den Gedanken Rosens hat bestätigen können.

Betreffs des Entstehens der Nukleolen in den Tochterkernen gehen

---

[1]) Nach Auerbach (1876) zeigen die Nukleolen eine Tendenz, Vakuolen im Plasma zu erzeugen. Bei *Vicia* habe ich nicht Vakuolen um die ausgetretenen Nukleolen beobachtet, dagegen habe ich solche bei *Allium* in lebendem Zustand und häufig bei *Cucurbita* in fixierten Präparaten gesehen. Die Vakuolen werden wohl durch die bei der Auflösung der Nukleolen entstandenen osmotisch wirksamen Stoffe erzeugt. Überhaupt pflegen ja im Plasma sich lösende Körper von einer Vakuole umgeben zu werden (vgl. z. B. Pfeffer, Über Aufnahme und Ausgabe ungelöster Körper, Abh. d. math.-phys. Klasse d. königl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Bd. 16, 1891, S. 149).

die Meinungen ebenso auseinander wie betreffs deren Verhalten in der Prophase. Diejenigen, die annehmen, daß die Chromosomen Nukleolarsubstanz empfangen, behaupten, daß in der Telophase die Nukleolen durch Abgabe dieser Substanz wieder entstünden. Die Belege, die vorgeführt werden, sind denen, die man für die prophasischen Verhältnisse angezogen hat, ganz analog. Da man aber in keinem Falle kritisch verfahren hat, müssen wir uns auch gegen die für die Telophase beschriebenen Verklebungen zwischen Nukleolen und Chromosomen ablehnend stellen, da wir doch bei unsern eigenen Untersuchungen keine Beweise für die reale Existenz solcher Verklebungen gefunden haben. Die neu entstandenen Nukleolen liegen immer wie kleine Kugeln völlig frei in der Kernhöhle, und die Vermehrung der Nuklearsubstanz gleichzeitig mit der Auflösung der Chromosomen ist nur ein sehr schwaches Argument (vgl. oben S. 460). Wäre die Nukleolarsubstanz als Kernsekret oder Stoffwechselprodukt des Karyotins zu betrachten, so würden sich außerdem auch eigentümliche Lokalisationsverhältnisse hierdurch erklären. Flemming (1882, S. 143) erwähnt, daß die Nukleolen als „Substanzansammlungen im Bereiche des Gerüstes entstehen". Nach Guignard (1885) und Strasburger (1888, S. 185) findet das Wiederauftreten der Nukleolen im Kontakt mit den Kernfäden oder Fadenwindungen statt. Nach Strasburger ist es öfters zu beobachten, „daß die der Teilungsebene zugekehrte Zellkernhälfte in der Bildung der Nukleolen zunächst bevorzugt ist". Ganz entgegengesetzte Verhältnisse hat Němec (1899b) gefunden. Strasburgers Hypothese, daß ein Teil der Nukleolarsubstanz bei der Membranbildung verwandt wird, hatte, wie schon Zacharias und Zimmermann erwähnten, nur sehr schwache Stützen. Bei allen in der Literatur an der Hand fixierter Präparate gemachten Angaben über morphologische Beziehungen zwischen den Nukleolen und den Tochterfäden ist an das oben über diese Verhältnisse Gesagte zu denken. Sehr skeptisch muß man sich gegen solche Verhältnisse in den Tochterkernen höherer Pflanzen wie die von Wager (1904) bei *Phaseolus* beschriebenen verhalten. Martins Mano hat ja auch an demselben Objekt Wagers Ergebnisse nicht bestätigen können. Allem Anschein nach hat Wager schlecht fixierte Präparate benutzt (Perenyische Flüssigkeit).

Im allgemeinen scheinen zuerst mehrere Nukleolen in den Tochterkernen aufzutauchen, um dann z. T. zu verschmelzen. Zacharias (1885, Sp. 279) beschreibt den Vorgang in den Rhizoiden von *Chara*, wo er ihn im Leben beobachtet hat. Zuerst wurden in jedem Tochterkern vier kleine Nukleolen bemerkt. Dann verschmolzen sie nach bzw. 3½ und 1½ Stunden zu zwei und zu einem Nukleolus. „Bei der Verschmelzung bilden die Nukleolen zumeist einen biskuitförmigen Körper, der sich

später kugelig abrundet. Die Deutlichkeit der Nukleolen nimmt während des Vorgangs der Verschmelzung stark ab, um später wieder zu steigen." —

Verlaufen also die Verwandlungen der Nukleolen mutmaßlich bei allen höheren Pflanzen (und vielleicht auch Tieren)[1] in prinzipiell übereinstimmender Weise und wie wir es oben geschildert haben, so scheinen unter den niederen Organismen, entsprechend den hier viel mannigfaltigeren Kernteilungstypen, die Nukleolen, d. h. die den Nukleolen der höheren Pflanzen äußerlich ähnelnden Bildungen, z. T. recht komplizierte Bildungen zu sein, die man nicht ohne weiteres mit denjenigen der höheren Organismen homologisieren kann.

Sicher ist es, daß bei vielen niederen Organismen die Chromosomen aus nukleolusähnlichen Körpern entwickelt werden. In *Spirogyra* z. B. scheint dies der Fall zu sein[2]. Unter den Protisten sind die Kernverhältnisse sehr mannigfaltig und können nukleolusähnliche

---

[1]) Carnoy und Lebrun (1897—1903) und Fick (1899) haben in den Eiern der Amphibien eigentümliche Verhältnisse beschrieben. Während der mehrere Jahre dauernden Wachstumsperiode soll das „Chromatin" zeitweilig auf die Nukleolen konzentriert werden und diese sich wiederum periodisch in eine Anzahl „Chromatinfiguren" auflösen. Aus den Untersuchungen Borns (1902) scheint aber hervorzugehen, daß die Behandlung der Objekte z. T. Schuld an diesen Verhältnissen ist. Er sieht aber z. T. ein Heraussprossen der Figuren aus den Nukleolen, ist aber der Ansicht, daß „die Bildung und Auflösung der Nukleolarsubstanz unabhängig von den Schicksalen des chromatischen Gerüsts erfolgt" (a. a. O. S. 758). Oben (S. 456) erwähnten wir einige zoologische Arbeiten, in denen die Annahme genetischer Beziehungen zwischen Nukleolen und Chromosomen verfochten wird. Es erschien uns aber nicht unberechtigt, auch diese Angaben durch unsere Ergebnisse zu beleuchten. Obwohl also auch zoologischerseits eine Anzahl Beobachtungen über genetische Beziehungen zwischen Nukleolen und Chromosomen wohl auf unrichtige Behandlungsweise der Objekte zurückzuführen sind, dürften jedoch unter den Tieren beträchtlich verwickeltere Verhältnisse als bei den Pflanzen herrschen. Carnoy unterschied bekanntlich vier Arten von Nukleolen: nucléoles nucléiniens, nucléoles-noyaux, nucléoles plasmatiques, nucléoles mixtes. Meistens sind wohl solche und ähnliche Angaben in mehr nebensächlichen Verhältnissen, wie Färbung, Gestalt usw. begründet. Macallum wollte zwischen mindestens drei Arten von Nukleolen bei *Erythronium* unterscheiden. Er bediente sich hierbei aber der Eisenreaktionen, welche nach Zacharias (Progr. rei bot. 1909) betreffs der Zelle bzw. des Kerns völlig unzuverlässig sind. Angaben über eigentümliche tierische Nukleolen findet man in der Zusammenstellung Montgomerys (1899). Offenbar ist die Lehre von den tierischen Nukleolen einer durchgreifenden Revision bedürftig.

[2]) J. W. Moll, Observations on karyokinesis in *Spirogyra*. Verh. d. Akad. van Wetensch. Amsterd. Tweedle Sectie, Deel I, No. 9; Mitzkienitsch, Über die karyokinetische Teilung des Zellkerns von *Spirogyra*, Flora, Bd. 85, 1898, S. 81; van Wisselingh, Über den Nukleolus von *Spirogyra*, Bot. Ztg., 1898, I, S. 195; Derselbe, Über abnorme Kernteilung, ebenda 1903 I, S. 215; J. Berghs, Noyau et la cinèse chez la *Spirogyra*, La Cellule, T. 23, 1906.

Körper eine sehr verschiedene Bedeutung haben. Ich erinnere z. B. an die Nukleozentrosomen bei *Euglena viridis*[1]). Wir wollen hier nicht auf alle diese Angaben eingehen, wir werden uns mit ihnen hoffentlich in einer späteren Arbeit ausführlicher beschäftigen können.

Offenbar sind die bis jetzt mangelhaften Merkmale der Nukleolarsubstanz (vgl. S. 453) Schuld an den Unklarheiten über die Bedeutung der Nukleolen, die dadurch entstanden sind, daß man die Merkmale der Nukleolen höherer Organismen auf diejenigen der niederen und umgekehrt übertragen hat. Unsere zytomorphologische Nomenklatur ist nur provisorisch und nicht allgemein gültig. Daher soll man entweder ein Übertragen der Termini auf Organismen auf sehr verschiedenen Entwicklungsstufen vermeiden oder sie mit so allgemeinen Begriffen verknüpfen, daß darin später nach Bedürfnis mehrere speziellere Termini untergebracht werden können.

Kapitel 5. Verlagerungen und Strukturveränderungen im Protoplasma.

§ 1. Übersicht der Erscheinungen.

Das Protoplasma ist wegen seiner leichtflüssigen Konsistenz meistens schwieriger zu fixieren als der Kern. Besonders in den Pflanzenzellen, deren Protoplasma manchmal beweglicher als das in den Tierzellen ist, gelingt es nur in ganz besonders günstigen Fällen, eine einigermaßen naturgetreue Erhaltung der lebenden Struktur zuwege zu bringen. Nach den Untersuchungen von Lidforss (1908) sind die embryonalen Zellen in Fixierungshinsicht günstiger beschaffen als die mit großen Vakuolen versehenen ausgewachsenen Zellen. Aber wir besitzen keine Belege dafür, daß die feinsten Strukturen des Plasmas jemals ohne bedeutende Alteration fixiert werden könnten. Meine eigenen Untersuchungen über das Protoplasma der Wurzelmeristemzellen von *Vicia Faba* (1910 b, S. 329 ff.) haben gezeigt, daß sogar die relativ großen Leukoplasten durch die beste Fixierungsflüssigkeit, die wir kennen, nämlich die Flemmingsche, bedeutend deformiert werden. Es ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, daß man spezielle Plasmakonservierungsmittel auffinden könnte (vgl. die von Lidforss, 1908, benutzte Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen). Die Erfahrung hat ja gelehrt, daß die Kriterien für ein gutes Fixierungsmittel sehr kompliziert und je nach dem zu fixierenden Gegenstand wechselnd sind (vgl. 1912 a).

---

[1]) Keuten, Die Kernteilung von *Euglena viridis* Ehr., Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60, 1895.

Wie aber unsere Methodik jetzt steht, muß es als sehr eigentümlich erscheinen, daß trotz der unsicheren Fixierung des Plasmas, die man immer mit den ausgesprochenen Kernfixierungsmitteln erzielt, sehr feine Spindelfasern häufig beobachtet werden. Offenbar ist die Wahrscheinlichkeit nicht groß, daß diese in den fixierten Präparaten beobachteten Bildungen präformiert wären.

Tatsächlich sind Spindelfasern niemals einwandfrei im lebenden Zustand beobachtet worden. Die von Treub (1878) beobachteten „stries", sowie die von mir in einem Falle beschriebenen Fäden gehören anscheinend einer ganz anderen Kategorie als den bekannten Spindelfasern der Meta- und Anaphasenfigur an (vgl. 1912b, S. 278). Über die von mir beobachteten Fäden wurde schon S. 399 berichtet, und was die Treubschen „stries" anlangt, so gehören sie eher mit den sogenannten Polstrahlungen als mit den Spindelfasern zusammen. Und Polstrahlungen und Spindelfasern sind nicht ganz identische Dinge.

Polstrahlungen sind im lebenden Zustand beobachtet worden, d. h. vornehmlich in tierischen Objekten. Bei den Pflanzen wurden in dem lebenden Zustande ähnliche Strahlungen von Fitting (1900) beobachtet. Wir werden uns unten näher mit Fittings wichtigen Befunden beschäftigen. Nach den Abbildungen, die man von den Polstrahlungen, wie sie im lebenden Zustande beobachtet werden, gegeben hat, zu urteilen, bestehen sie nicht aus Fasern, sondern es dürfte sich hier eher um bestimmte Anordnungen der plasmatischen Substanzen handeln. Ähnliches dürfte für die Treubschen „stries" gelten.

Obwohl das Zustandekommen der Polstrahlungen kausal gar nicht erforscht ist, scheint es mir nicht ganz unberechtigt zu sein, sich eine Vorstellung von demselben zu bilden, die mit unserer Theorie der karyokinetischen Erscheinungen im Einklang steht. Ich stelle mir vor, daß das Protoplasma unter dem Einfluß der in den mittleren Stadien der Kernteilung herrschenden dualistischen Beziehungen zwischen den Zentrosomen, bzw. den Polplasmen (vgl. Kap. 6 und unten), welche Beziehungen in einem lebhaften Stoffwechsel oder in chemotaktischen Verhältnissen begründet sein dürften, in strömende Bewegung versetzt wird. Da nun aber ein und dasselbe Plasma nicht gleichzeitig in zwei entgegengesetzten Richtungen strömen kann, entstehen mehrere kleine nebeneinander liegende und entgegengesetzte Strömungen, die die einzelnen „Polstrahlen" vorstellen. Es leuchtet ein, daß diese Erklärung des Zustandekommens von Strahlungen, die nicht aus materiellen Fäden bestehen, auch für andere Fälle paßt, wo ein lokalisierter Teil des Plasmas, bzw. ein Plasmaorgan, in lebhaften Wechselbeziehungen mit dem übrigen Plasma steht.

Was nun die Spindelfasern anbetrifft, die man in den fixierten Präparaten beobachtet, so besteht die Möglichkeit, daß sie den Pol-

strahlen analoge Dinge wären. Die nichtfädigen Strahlungen könnten vielleicht bei der Fixierung als Fäden gerinnen. Andererseits ist es — wie schon gesagt — sehr wohl möglich, daß sie zu einem größeren oder geringeren Teil bloße Fixierungsprodukte sind.

In der Literatur werden die Spindelfasern sehr selten ohne theoretische Voreingenommenheit beurteilt. Die Auffassung von denselben hängt vielmehr fast immer direkt mit hypothetischen Vorstellungen über ihre Funktion zusammen, ohne daß man die Mängel der Methodik gebührend berücksichtigt hat. Die meisten in der Literatur vorfindlichen Angaben sind von der sogenannten Zugfasertheorie influiert worden. Da nun Spindelfasern nicht im Leben beobachtet worden sind, leuchtet es ein, daß man diejenigen Präparate oder diejenigen Zellen für am besten konserviert gehalten hat, die mit dieser Theorie gut übereinstimmende Bilder geben. Daher können manche Angaben und Abbildungen nicht als objektives Material gebilligt werden, und dadurch erhebt sich selbstverständlich eine neue Schwierigkeit bei einer kritischen Behandlung dieses Gebiets.

Wenn ich hinzufüge, daß im Leben sicher Fäden auch ganz passiv durch Ausziehen zäher Substanzen entstehen können (vgl. S. 399), und daß endlich unter dem Einfluß der im Zellinneren herrschenden physikalischen Bedingungen kleine Tröpfchen sich aneinanderreihen oder Fadenstrukturen sogar bei gewissen Zuständen der lebenden Materie simultan angenommen werden können, glaube ich zur Genüge gezeigt zu haben, welch ein verwickeltes Gebiet wir betreten haben, und welch ein schwieriges Unternehmen es ist, hier das Gute von dem Schlechten, das Wichtige von dem Nebensächlichen zu trennen.

In der folgenden Darstellung, wo wir uns vorwiegend an die Pflanzen halten wollen, werden wir, in Übereinstimmung mit unseren für die ganze Arbeit maßgebenden Intentionen, die in der Literatur vorhandenen Angaben durch die von uns erhaltenen Beobachtungsergebnisse beleuchten, und zugleich wollen wir, gemäß den in der Einleitung hervorgehobenen Gesichtspunkten, unsere Aufmerksamkeit auf diejenigen Angaben richten, die für die Theorie der Kern- und Zellteilung von Bedeutung sein können. Da viele Angaben in der Literatur — wie wir schon oben angeführt haben — eine kritische Betrachtung nicht aushalten können und übrigens auch bei kritischer Beobachtung, wegen der Mängel unserer Methodik, keine ganz sicheren Aufschlüsse über die Spindelfasern und homologe Dinge sich gewinnen lassen, haben wir uns nicht zu sehr mit Einzelheiten zu beschäftigen. Einzelheiten sind nur insofern von Bedeutung, daß sie unrichtige Auffassungen über die Mechanik der Teilungsvorgänge berichtigen und Hinweise auf die bei ihrer Ausgestaltung maßgebenden Kräfte geben.

§ 2. Im Protoplasma stattfindende Verlagerungen und Symmetrieveränderungen. Die Polstrahlungen.

Die Substanzverlagerungen und Symmetrieänderungen im Zellenleib, die die Karyokinese begleiten, sind bei Pflanzen und Tieren im Prinzip übereinstimmend. Sie können aber nachweislich verschieden stark ausgeprägt sein, was schon mit der allgemeinen Beweglichkeit und Zähigkeit des Plasmas zusammenhängen kann. Jedoch hängt ihre verschiedene Ausprägung größtenteils mit der Natur der Polplasmen zusammen. Bei den Tieren, wo Zentrosomen häufig vorkommen, sind die plasmatischen Veränderungen deutlich ausgeprägt: besonders schön sind hier die Polstrahlungen zu beobachten. Auch diejenigen Pflanzen, die Zentrosomen oder homologe Bildungen besitzen, weisen deutliche Polstrahlungen auf. Im Zusammenhang mit dem Auftreten von Polstrahlungen geschehen immer Lageveränderungen im Protoplasma, was am deutlichsten an vorhandenen Einschlußkörpern beobachtet werden kann. Diese Lage- und Symmetrieänderungen treten aber immer auf, auch in Fällen, wo keine Polstrahlungen vorkommen. Sie spiegeln in deutlichster Weise die Umwälzungen der Symmetrie im Zellenleib ab, die mit einer Teilung notwendig verknüpft sind. Um einen ruhenden Kern herum ist das Plasma — wenigstens das direkt an den Kern grenzende Plasma — immer monozentrisch oder radiär angeordnet. Bei der Teilung nimmt es eine dizentrische oder bipolare Anordnung an. Diese Tatsache ist ein allgemeines Charakteristikum der Veränderungen im Plasma, die im Zusammenhang mit der Karyokinese stattfinden. In den einzelnen Fällen sind die betreffenden Erscheinungen sehr verschieden ausgeprägt — wie wir es soeben bemerkt haben. Gleichzeitig mit diesen in der nächsten Umgebung des Kerns stattfindenden Umlagerungen und Veränderungen finden in gewissen Fällen bedeutendere Lageveränderungen des ganzen Zellinhalts statt. Alle diese Erscheinungen deuten einerseits darauf hin, daß bei den karyokinetischen Vorgängen die Veränderungen im Plasma eine bedeutende Rolle spielen, während sie andererseits zeigen, daß die bei den Teilungsvorgängen primär stattfindenden Erscheinungen in die Mechanik der ganzen Zelle eingreifen können, so daß durch sie eine Reihe sekundärer Symmetrieänderungen oder sonstiger Umlagerungen ausgelöst werden.

Die Polstrahlungen sind die mit der Karyokinese verknüpften Veränderungen im Protoplasma, die man zuerst beobachtet hat. Sie können bisweilen sehr deutlich werden, z. B. in tierischen Eiern, wo sie auch zuerst aufgefunden wurden. Bei Flemming (1882, S. 295) findet man eine Zusammenstellung der ältesten Literatur über den Gegenstand. Fol (1873, S. 475 f.) beschreibt, wie in dem sich teilenden Ei der Geryoniden das Keimbläschen zunächst verschwommen wird und gänzlich verschwindet (am lebenden Material). Nach Essigsäure-

zusatz sah er ein „Kernüberbleibsel", auf dessen beiden Seiten sich zwei Protoplasmaanhäufungen zeigten, „deren dicht angesammelte Körnchen zwei regelmäßige sternförmige Figuren darstellten"[1]). Die Sterne „sind auch ohne Essigsäurezusatz, jedoch sehr undeutlich, sichtbar". Auch Bütschli (1875, S. 428) beobachtete in den Hodenzellen von *Blatta germanica* solche „Sterne" in „prächtiger Ausbildung". Flemming (1882, S. 199) beschreibt die ersten Veränderungen in der Zellsubstanz bei der Zellteilung als die Anlage der Pole, wobei eventuell vorhandene Pigmentkörner etc. fast immer radiäre Anordnung annehmen. Bei den niederen Organismen und auch z. T. bei höheren Tieren wird die Symmetrieveränderung im Plasma, oder der Übergang von monozentrischer zu dizentrischer Anordnung, besonders akzentuiert durch das Vorkommen von Zentrosomen (vgl. Kap. 6).

Bei den höheren Pflanzen gehen prinzipiell ähnliche Symmetrieänderungen vor sich, jedoch sind sie zumeist weniger hervortretend, weil Polstrahlungen hier fehlen.

Solche Strahlungen (die nicht mit den eigentlichen Spindelfasern zu verwechseln und auch im lebenden Zustande beobachtet worden sind) kommen dagegen bei vielen Pflanzen vor, die nicht so hoch im System stehen. Eines der am besten studierten Beispiele ist *Isoëtes*. Besonders interessant sind hier die Umlagerungen und Strahlungen in dem Plasma der sich teilenden Makrosporenmutterzellen. Diese schon von Tschistiakoff und Strasburger (1880, S. 166 ff.) beobachteten Erscheinungen wurden neuerdings von Fitting (1900, S. 122 ff.) an lebendem Material verfolgt. Sie gestalten sich nach diesem Forscher in folgender Weise.

Die Makrosporenmutterzellen sind so durchsichtig, daß sich alle Veränderungen in ihrem Innern ohne Mühe an lebendem Material beobachten lassen (bei *Isoëtes Durieui* und *I. lacustre*). Die ersten mit der Teilung in Beziehung stehenden Anzeichen von Umlagerungen im Plasma machen sich bemerkbar schon in den noch nicht isolierten Sporenmutterzellen. Diese enthalten reichlich feinkörniges Protoplasma, und im Zentrum liegt der große, hyaline, mit großen Nukleolen versehene Kern. Diesem einseitig angelagert befindet sich ein aus zahlreichen kleinen Stärkekörnern und grobkörnigem Plasma bestehendes Klümpchen. Zunächst treten im Plasma Strahlungen auf, die von diesem Klumpen ausgehen und fast bis zur Wand der Mutterzelle reichen (diese Strahlungen gehen nicht von einem bestimmten Punkt in dem Stärkeklumpen aus, vielmehr gehen Strahlen von der ganzen gegen das Sporeninnere gerichteten Seite der Klumpen gleichmäßig nach allen Richtungen aus). Kurze Zeit nachher, während die Mutterzelle noch etwas an Größe zunimmt, streckt sich der Klumpen parallel zur Längsachse der Zelle in die Länge und teilt sich durch Einschnürung in zwei Teile, von denen jeder

[1]) Vgl. Fol 1873, Taf. XXIV, Fig. 2h.

etwa die Hälfte der Stärkekörner aufnimmt. Die Tochterklumpen, zwischen denen neue hyaline Plasmastrahlen ausgebildet werden, entfernen sich voneinander solange, bis sie etwa in die Brennpunkte der ellipsoidischen Mutterzelle gelangt sind. Während dieser Vorgänge war der Kern aus dem Zentrum in die Nähe der Peripherie gedrängt worden, er wandert nun wieder in dasselbe zurück. Wenn dieses Stadium erreicht ist, hat sich die Mutterzelle, die von jetzt ab nur langsam wächst, vollständig von den Tapetenzellen losgelöst. Nachdem die beiden rundlichen Tochterklumpen ihre Wanderung beendigt haben, strecken sie sich, immer von den Plasmastrahlungen umgeben, die bei *Isoëtes Durieui* sehr dick sind, in zwei aufeinander senkrecht stehenden Ebenen und Richtungen in die Länge. Die dicht gedrängt nebeneinanderliegenden Stärkekörner jedes Klumpens ordnen sich dabei meist in lange, gerade Linien an. Von der Mitte jeder dieser Stärkekörnerreihen fangen nun die Körner an, nach beiden Seiten hin zu wandern. Nur ganz kurze Zeit, nachdem sich die Körner getrennt haben, sind in der Mitte der Linie noch ein oder mehrere — anscheinend aus Plasma bestehende — Stränge zu erkennen, die, wie es scheint, die Körnchen umhüllt haben. Die letzteren ballen sich an den Enden der Linien wieder zu rundlichen, von dunklem, körnigen Plasma umhüllten Klumpen zusammen. Der Erfolg dieser Umlagerungen ist, daß nun in der Mittelzelle vier solche Inhaltsmassen in tetraëdrischer Anordnung und in gleichen Abständen voneinander an der Peripherie des Plasmakörpers vorhanden sind, von denen nach allen Seiten in das Plasma Strahlungen ausgehen, die in den künftigen Zellplatten der Spezialmutterzellen zusammentreffen. Die Mutterzellen haben jetzt Kugelgestalt angenommen und eine sekundäre Verdickungsmembran bekommen. Jetzt verschwindet plötzlich der große Kern am lebenden Material vollständig. Er ist in Teilung getreten, wovon man sich auf mikrotomiertem Material überzeugen kann. Bei den Polen der Spindel sieht man deutliche Ansammlungen körnigen Plasmas. Sie liegen in der Mitte zwischen je zwei der vier tetraëdrisch angeordneten Stärkeklumpen und zwar, wie es scheint, zwischen je zwei Schwesterklumpen. In den Anaphasen sieht man zahlreiche Verbindungsfäden und eine deutliche Zellplatte, diese verschwinden aber sehr bald und die Kerne schicken sich zur zweiten Teilung an, die in aufeinander senkrecht stehenden Ebenen so stattfindet, daß die Pole der Teilungsfiguren dicht seitlich an — aber nie in — je einen Stärkeklumpen zu liegen kommen. Durch Ansammlungen feinkörnigen Plasmas heben sich auch die Pole deutlich ab. Bemerkenswert ist, daß die Strahlungen nicht von der Spindel und den Spindelfäden beeinflußt werden. Erstere haben jedoch durch die Fixierung sehr an Deutlichkeit eingebüßt. (Alkohol, 1—2% Sublimat und Flemming wurden mit gleichem Erfolg verwendet). Nur zwischen den Schwesterkernen bilden sich Verbindungsfäden und Zellplatten aus. Die Strahlungen zwischen den Stärkeklumpen werden stark vermehrt und Zellplatten ausgebildet, wo die Strahlen aufeinander treffen. Dann entstehen in allen sechs Ebenen simultan die Zellwände, von denen vier also ohne die zwischen den Kernen ausgespannten Verbindungsfäden zustande kommen.

Wir haben die Beobachtungen Fittings so ausführlich zitiert, weil Fittings Arbeit eine der wenigen Untersuchungen ist, die an lebendem pflanzlichen Material gemacht sind, und uns Verlagerungen im Protoplasma vorführt, die für die Auffassung der Zytomechanik sehr wichtig und interessant sind. Freilich werden die Verlagerungen in den Makrosporenmutterzellen von *Isoëtes* besonders kompliziert durch das Vorhandensein der mit Stärke ausgerüsteten Plasmaballen, sie werden aber auch dadurch um so instruktiver. Prinzipiell herrscht kein größerer Unterschied zwischen den Plasmaballen bei *Isoëtes* und den tierischen Zentrosomen oder den Polplasmen bei den höheren Pflanzen. Alle diese Erscheinungen stellen Kriterien für die sich verändernden Symmetrieverhältnisse vor, indem sie bei diesen eine Rolle als auslösende Faktoren spielen oder dieselben nur sekundär abspiegeln.

Die Erscheinungen in den Makrosporenmutterzellen von *Isoëtes* lehren, daß mit der Kern- und Zellteilung bedeutende morphologische Veränderungen im Plasma koordiniert sein können, Veränderungen, die ebenso wie die Veränderungen im Kern zyklisch sind. Solche Veränderungen müssen offenbar mit bedeutenden Schwankungen in dem ganzen Zellbetrieb verbunden sein. Daher werden bei Zellen, die zugleich Produkte enthalten, welche den spezialisierten Zustand kennzeichnen, diese bei den Umlagerungen in Mitleidenschaft gezogen. Ein Beispiel bilden die Stärkeballen bei *Isoëtes*. Noch deutlicher machen sich die bedeutenden Umlagerungen im Zellenleib, die indirekt mit der Kern- und Zellteilung zusammenhängen, bei der von Berthold studierten Teilung der Sporen von *Equisetum* kenntlich. In Anbetracht der großen allgemeinen Bedeutung dieser und ähnlicher Verhältnisse will ich auch Bertholds (1886, S. 188 ff.) Untersuchungen ebenso ausführlich wie diejenigen Fittings zitieren.

Etwa zwölf Stunden nach der Aussaat der Sporen von *Equisetum* war der anfangs zentral gelegene Kern stark nach einer Seite hinübergewandert. Zwischen ihm und der Membran liegt jetzt nur noch eine dünne Plasmaschicht, die außer den dunklen Körnchen in der unmittelbaren Umgebung des Kerns wenige Chlorophyllkörper und unmittelbar der Wand benachbart wenige stark glänzende linsenförmige Tröpfchen enthält. An der gegenüberliegenden Seite sind alle Plasmaschichten stark verdickt.

Während nun der Kern sich mehr und mehr in tangentialer Richtung ausbreitet und der Nukleolus in ihm sich zu lösen beginnt, fangen an der gegenüberliegenden Zellseite die wandständigen Plasmaschichten an, sich gegen die chlorophyllführende Schicht vorzustülpen und in sie hineinzuwandern. Man sieht bei anhaltender Beobachtung, wie sich von ihnen dicke, plumpe Fortsätze erheben, wie diese sich ablösen und in das Innere der chlorophyllhaltigen Schichten hineinwandern. So sammelt sich hier allmählich ein dunkler Haufen von Wandplasma an.

Der Kern hat sich mittlerweile noch mehr in radialer Richtung abgeflacht, die Plasmamasse, in der er liegt, noch mehr ausgebreitet. Die Konturen des Kerns sind im Leben nicht mehr scharf zu erkennen, die helle Plasmamasse, die ihn enthält, zeigt aber sternförmige Umrisse. Der Nukleolus ist verschwunden.

Im Innern der Zelle haben wir jetzt eine invers geschichtete Plasmamasse, deren Mitte das Wandplasma einnimmt, umgeben von einer chlorophyllführenden Schicht. Der letzteren liegt der Zellkern einseitig auf. Die Membran bleibt in ihrer ganzen Ausdehnung von einem dünnen Wandbeleg mit normaler Schichtung belegt. Zwischen diesem Wandbeleg und der zentralen, invers geschichteten Masse ist aber eine scharfe Grenzlinie nicht nachweisbar, die Grenze wird von den den Kern aufnehmenden Plasmaschichten gebildet, welche beiden Systemen angehören.

Der helle, den Kern enthaltende Fleck zeigt langsame, unregelmäßige Gestaltsveränderungen, schließlich streckt er sich etwas und es erscheint in der Mitte eine schwache Einschnürung. Der übrige Teil der inneren, invers geschichteten Plasmamasse streckt sich aber ebenfalls, jedoch in einer dazu senkrechten Ebene. Hiermit sind nun langsam sich abspielende Umlagerungsvorgänge eingeleitet, infolge deren zuletzt die währenddem entstehende Teilungsfigur des Kerns eingelagert wird in einen äquatorialen Plasmazylinder, der sich aus dem invers geschichteten Plasmahaufen herausbildet. Die Kernfigur wandert damit wieder in das Innere der Zelle hinüber.

Während die Einschließung der Kernfigur durch das chlorophyllhaltige Plasma allmählich und ziemlich unmerksam erfolgt, entsteht aus dem tropfenführenden Wandplasma, welches ihm eingelagert war, meist mehr oder weniger plötzlich, allerdings nach manchen vergeblichen Anläufen, ein äquatorialer Ring, der aber ebenfalls dem kurz vorher entstandenen chorophyllführenden Plasmazylinder wieder eingelagert ist. Bei Beginn der Bildung des erwähnten äquatorialen Ringes aus Wandplasma lösen sich zunächst von der Hauptmasse einzelne Partien ab und verteilen sich in die Äquatorialebene, oft sieht man kurze Zeit deutlich ringförmig angeordnete, einzelne, graue Plasmahaufen, dann sind sie wieder kaum zu erkennen. Schließlich ist dann ein dauernd geschlossener Ring nach den Einzelfällen wechselnder Dicke und Masse nachzuweisen. Während die vorstehend beschriebenen Umlagerungsvorgänge erfolgen, ist der innere Rand des chlorophyllhaltigen Plasmazylinders in der Äquatorialebene mehr oder weniger tief in die Kernfigur eingedrungen. Es ist nicht daran zu zweifeln, daß sie dieselbe, wie bei *Tradescantia*, schließlich vollständig durchtrennt. Doch ist das hier zunächst darum nicht sicher nachzuweisen, weil anfangs die Chlorophyllkörper selbst jedenfalls nur in geringer Zahl bis zur Mitte vordringen. Bald nachher kann man sie aber der Innenseite der in Bildung begriffenen neuen Kerne, wie bei *Tradescantia* die Stärkekörner, aufliegen sehen. Bald darauf erscheint auch hier in der Äquatorialebene in Form einer bikonvexen Linse die hyaline Masse, in welcher die Zellfäden und die neue Membran auftreten.

Hinsichtlich der von Berthold (1886, S. 191) angegebenen Abweichungen von dem soeben geschilderten Verlauf der Umlagerungen

bei den Teilungsvorgängen, die er an altem Sporenmaterial von *Equisetum* beobachtet hat, sei erwähnt, daß es nach dem seitdem auf diesem Gebiet Entdeckten unsicher ist, ob die von ihm beschriebene „stark lichtbrechende, hyaline Masse“, die in dem zentralen Teil des Wandplasmas von sternförmigem Umriß sich ansammelt und dann sich zwischen den sich bildenden Tochterkernen einzwängt, wirklich mit dem Phragmoplast identisch ist. Berthold (1886, S. 188) erwähnt auch, daß es ihm in der Regel nicht gelungen ist, an demselben Material den „Teilungsvorgang ohne Unterbrechung von Anfang bis zu Ende zu verfolgen“. Jedoch beobachtete er (1886, S. 192) in anderen, noch älteren Sporen eine Ausscheidung von Zellulose in den erwähnten, im zentralen Wandplasma liegenden Tröpfchen. Nachuntersuchung wäre hier sehr wünschenswert. Was die Zelluloseausscheidung anbetrifft, so ist sie nicht so streng auf gewissen Schichten lokalisiert, wie es Berthold behauptete.

Bekanntlich legte Berthold großes Gewicht auf einen „geschichteten Bau“ des Zellkörpers. Zweifelsohne kommen bei mehreren Zellen (bes. unter den niederen Organismen) solche Schichten im Plasma vor, und das von Berthold in Angriff genommene Studium dieser Verhältnisse in dem ruhenden Zustand und bei der Reproduktion der Zellen muß als grundlegend betrachtet werden. Dagegen dürfte es unzweckmäßig sein, eine ähnliche strenge Schichtung bei allen Zellen zu behaupten, und gewisse Funktionen, z. B., wie erwähnt, die Zelluloseausscheidung, an bestimmte Schichten zu binden. Die Plasmaströmung muß der Entstehung morphologischer und auch funktioneller Schichtungen hinderlich sein.

In der Tat lassen sich die Kern- und Zellteilungsvorgänge, wie wir schon aus den kurzen Mitteilungen in Kap. 6 sehen werden, ohne Annahme einer ausgesprochenen Schichtung des Plasmas erklären.

Wo aber Schichten vorhanden sind, wie in den soeben beschriebenen Sporen von *Equisetum*, geben ihre Verlagerungen und Wanderungen bei der Zellteilung interessante Aufschlüsse darüber, welche durchgreifenden Veränderungen der statischen oder Symmetrieverhältnisse im Plasma mit der Zellreproduktion verknüpft sind.

Bei *Equisetum* werden offenbar keine Polstrahlungen ausgebildet, welches lehrt, daß diese nebensächliche Phänomene sind. Polstrahlungen scheinen nur bei kleiner Ausdehnung der Teilungszentren ausgebildet zu werden. Sie beruhen wahrscheinlich auf intensiven und lokalisierten Wechselbeziehungen zwischen diesen und dem übrigen Plasma (vgl. S. 465).

Bei den höheren Pflanzen werden keine besonders umgrenzten Teilungszentren gebildet. Hier vermißt man auch Polstrahlungen. In der Literatur findet man dessenungeachtet bisweilen Angaben über

solche Strahlungen. Es handelt sich in diesen Fällen aber immer um Dinge, die man in fixierten Präparaten gesehen hat, und welche ganz ebenso wie die Spindelfasern aussehen.

Die echten Polstrahlungen sind nicht Fäden, sondern Züge oder Strömungen im Plasma, welche bei der Fixierung meistens undeutlich werden (vgl. die oben zitierten Angaben Fittings). Die „Polstrahlungen", die man bei höheren Pflanzen beschrieben hat und welche von den Spitzen der Kernspindel ausgehen sollen, dürften zumeist Ausfällungsprodukte oder in anderer Weise erzeugte Artefakte sein. Dies konnte ich speziell für die von Němec (1900, S. 43) beschriebenen „Polstrahlungen" bei *Allium* nachweisen (vgl. S. 390). Im Leben sind niemals solche Faserbildungen, wie die von Němec und anderen beschriebenen, beobachtet worden (vgl. 1912 b)[1]).

Die einzigen Erscheinungen im Plasma, die man während der Teilung des Kernes bei höheren Pflanzen an lebendem Material beobachtet hat, sind relativ schwache polare Anhäufungen von Plasma, die die Entstehung einer bipolaren (dizentrischen) Symmetrie um den Kern kennzeichnen.

Im allgemeinen scheint während der Kernteilung das Plasma sich stärker an den Kern anzusammeln, was besonders bemerkbar wird in Zellen, die große Vakuolen besitzen. Die Beobachtungen hierüber, außer denen, die von Treub und von den Forschern gemacht worden sind, die die Teilung der Staubfädenhaarzellen von

---

[1]) In fixierten Präparaten wurden „Strahlungen" außerdem von Strasburger (1888, 1897, 1900), Guignard (1885), Körnicke (1906) beobachtet. Ihr Auftreten ist aber wechselnd. Guignard erwähnt, daß an ein und demselben, dem gleichen Entwicklungsstadium entnommenen, in derselben Weise fixierten und tingierten Objekte das eine Mal die Strahlung sichtbar sein kann, das andere Mal unkenntlich bleibe, ohne daß die Präparate sonstige Verschiedenheiten zeigen. Auch um ruhende Kerne hat man Strahlungen (in fixierten Präparaten) gesehen. Diese wie jene Beobachtungen können kein größeres Zutrauen für die Existenz dieser Bildungen im Leben einflößen. Unsere eigenen Befunde (Kap. 1 und 2) sind entschieden negativ. Es wäre ja etwas sehr eigentümliches, falls so feine präformierte Strukturen genau erhalten werden könnten, da Leukoplasten, Vakuolen und Polplasmen auch bei sehr guter Kernfixierung bedeutend entstellt werden.

Man könnte einwenden: „Woher entstünden artifizielle Strahlungen eben um die Spindelpole?" Ja, beim ersten Blick könnte dies vielleicht als ein Argument für ihre Präformation betrachtet werden. Nähere Untersuchungen lehren aber, daß Strahlungen auch an ruhenden Kernen und an beliebigen kleinen Verdichtungen und Körnchen im Plasma erzeugt werden können (vgl. Kap. 2), und daß sie vorzugsweise um die Spindelpole entstehen, kann einfach damit zusammenhängen, daß hier das Plasma immer dichter ist, so daß die hier reichlich vorkommenden Körnchen usw. als ebensoviele Strahlenwecker dienen. Nicht selten stellen kleine Körnchen die „Spindelpole" vor (Kap. 2).

Tradescantia beobachtet haben, sind aber ziemlich spärlich. Auch dürfte unter Umständen bei der Fixierung eine Verdichtung des Plasmas an der Oberfläche des Kerns entstehen.

Andererseits sind auch die Angaben über polare Anhäufung des Plasmas ziemlich spärlich, was außer mit mangelnder Aufmerksamkeit auf diesen Punkt damit zusammenhängen dürfte, daß durch die Fixierung häufig gewaltsame Umlagerungen im Plasma hervorgerufen werden. Das Plasma bietet ja in den Präparaten nicht selten ein zerrissenes Aussehen, die Vakuolen erscheinen deformiert usw. In meiner Arbeit 1910b findet man speziellere Angaben hierüber.

Unzweifelhaft wird aber in der Prophase immer eine, obwohl morphologisch schwach ausgeprägte, dizentrische Anordnung in der den Kern umgebenden Plasmamasse der höheren Pflanzenzellen ausgebildet.

Auch wenn keine Verdichtung des Plasmas optisch beobachtet werden kann, pflegt jedoch die dizentrische Anordnung in Fällen klar zutage zu treten, wo im Plasma besondere Körper, wie Chromatophoren oder Nukleolen, eingeschlossen sind.

Daß Chromatophoren (Leukoplasten) bei der Zellteilung dizentrisch verteilt werden, konnte ich (1910b, S. 362 ff.) in den Wurzelspitzen von *Vicia Faba* nachweisen. Eine Ansammlung extranuklearer Nukleolen und dergleichen Körper an den Polen wurde von mehreren Forschern beschrieben (vgl. z. B. Debski 1897; Němec 1901). Auch kleine Körnchen (Granula) im Plasma können an den Polen dichter angehäuft werden, was für die Entstehung von Spindelfasern von Bedeutung sein kann (vgl. unten).

Die polare Anhäufung, d. h. die dizentrische Anordnung des Plasmas, die bei höheren Organismen in der Prophase immer ausgebildet wird, kann, wie gesagt, mehr oder weniger ausgeprägt sein, und ebenso kann man sagen, daß bei dieser Anordnung ein größerer oder geringerer Teil des Plasmas in Mitleidenschaft gezogen wird. Für die Mechanik der Zellreproduktion ist es gleichgültig, ob die anfängliche und während der Kernteilung herrschende dizentrische Anordnung des Plasmas nur diejenigen Partien betrifft, die den Kern unmittelbar umgeben, oder ob sie weiter um sich greift und bis an die Hautschicht reicht. Das prinzipiell Wichtige ist, daß eine dizentrische Anordnung überhaupt auftritt, die sodann die folgenden Vorgänge dirigiert. Die primäre dizentrische Anordnung wird im Organismenreich in sehr wechselnder Weise realisiert (vgl. Kap. 6), bei den höheren Pflanzen besteht sie in der bipolaren Anhäufung eines Teiles des Plasmas. In beinahe allen Fällen muß diese dizentrische Anordnung, wie wenig umfangreich sie auch anfänglich ist, mehr und mehr um sich greifen, bis sie in der völligen Zweiteilung

der Zelle endigt. In speziellen Fällen, wie z. B. in Embryosackwandbelegen, hört die weitere Ausbildung der bipolaren Symmetrie nach der Teilung des Kerns auf. Solche Fälle sind aber nur Spezialfälle, die durch Wegfallen einiger Glieder des Zellreproduktionszyklus zustande kommen. In der Regel folgt ja bei höheren Organismen auf eine Kernteilung immer eine Zellteilung.

Bei größeren Zellen, oder solchen, die — wie die Sporen von *Equisetum* — speziell ausgebildet sind und demgemäß ein heterogenes Plasma besitzen, pflegt sich anfangs, um eine Ausdrucksweise Bertholds zu gebrauchen, das Plasma in der Umgebung des Kerns zu individualisieren, und hier wird zunächst eine dizentrische Anordnung ausgebildet, die nicht zugleich die peripherischen Plasmateile mit einbegreift. Aus der nach Berthold oben zitierten Beschreibung der Teilungsvorgänge der *Equisetum*sporen kann man ersehen, wie sich diese Verhältnisse im einzelnen gestalten.

Nach Berthold kommen prinzipiell ähnliche Verhältnisse in sich teilenden Zellen des jungen Markes und Grundparenchyms von Stengeln und Blättern bei *Tradescantia subaspera, Hyacinthus, Galanthus, Leucojum* u. a. Amaryllideen, im Mark von *Papaver Rhoeas, Rumex, Tragopogon* u. a. vor.

Diese anfangs lokalisierte dizentrische Anordnung des Plasmas geht wahrscheinlich notgedrungen aus der durch die Raumverhältnisse besonders bemerkbaren Arbeitsverteilung innerhalb der Zelle hervor, indem das Plasma gleichzeitig den allgemeinen Stoffwechsel, den Stoffaustausch mit der Umgebung und die ähnlichen Beziehungen zu dem Kern zu besorgen hat. Dadurch kann natürlich zunächst nur eine begrenzte Plasmamenge (obwohl diese freilich die größte zu sein pflegt) um den Kern gesammelt werden und an den für die Teilung derselben so wichtigen Symmetrieänderungen teilnehmen. Erst später und durch die besondere Wirksamkeit des „Phragmoplasten" werden diese Symmetrieänderungen über den ganzen Protoplasten fortgepflanzt.

Da diese „Individualisierung" einer zentralen Plasmapartie — wie gesagt — nur die Folge einer „Arbeitsverteilung" ist, oder da sie besser so erklärt wird, daß die bei der dizentrischen Anordnung des Plasmas tätigen Kräfte nicht stark genug sind, um diese Anordnung sogleich der totalen Plasmamasse aufzudrücken, kann sie nicht als prinzipiell bedeutungsvoll betrachtet werden, obwohl selbstverständlich das Vermögen des Plasmas, eine solche Arbeitsverteilung zustande zu bringen, als für die gegebenen Fälle sehr zweckmäßig betrachtet werden muß und namentlich die Vorbedingung für Kernteilungen in mehrkernigen Zellen ausmacht (z. B. Embryosäcken). Denn bei kleinen Zellen, die ohne größere Safträume sind, tritt nachweislich keine solche „Individuali-

sierung" ein, oder (da die Hautschicht und die an dieser adhärierende Plasmamasse wohl immer ziemlich unberührt bleiben) sie wird nicht besonders ausgeprägt.

Die Variationsmöglichkeiten bei der Ausdehnung der für die Kernteilung (vgl. Kap. 6) zunächst ausreichenden dizentrischen Anordnung im Plasma sind aber sehr interessant, weil sie lehren, daß diejenige Bildung, die wir „Phragmoplast" nennen und welche die Teilung des Zellenleibs vollführt (s. § 3), eine unbedingt notwendige und sehr zweckmäßige Einrichtung ist, indem in dieser Bildung eine dizentrische Anordnung erhalten wird, die durch Lagewechsel bzw. Ausdehnung des Phragmoplasten auch in großen Zellen vollständige Zweiteilungen des Zellenleibes bewirken kann.

In tierischen Zellen sind die „zentrierenden" Kräfte meistens viel stärker und vor allem lokalisierter (vgl. Polstrahlung!), und hier kommt der wichtige Umstand hinzu, daß die Zweiteilung auch von außen nach innen beginnt. Wir wollen hier nicht näher auf diese interessanten mechanischen Verschiedenheiten der Pflanzen- und der Tierzellen eingehen (vgl. die Andeutungen in Kap. 6).

Der Phragmoplast entsteht nicht aus den in den Zwischenraum zwischen den Tochterkernen eingewanderten peripheren Plasmaschichten, wie es Berthold behauptete. Wenn er betreffs seiner Bildung an ein bestimmtes Plasma gebunden wäre, müßte es wohl das zwischen den Tochterkernen hinterlassene Spindelplasma sein. Überhaupt ist eine solche Wanderung von Schichten, wie es Berthold beschreibt, kein mit der Zellreproduktion notwendig verknüpftes Phänomen, obwohl in gewissen Fällen solche Wanderungen tatsächlich beobachtet werden (vgl. oben über *Equisetum*) und überhaupt durch die mit der Kern- und Zellteilung verbundenen zyklischen Stoffwechseländerungen weitgehende Strömungen und Verlagerungen in dem ganzen Protoplasten verursacht werden können.

Berthold (1886, S. 187) beschrieb bei *Tradescantia*, wie sich im Moment, in dem sich die Kernplatte gebildet hat, der Wandbelag (die Zellen führen „einen großen zentralgelegenen Zellkern, das Plasma füllt in wenig dicker hohlkugeliger Schicht den Raum zwischen ihm und der zarten Membran aus. Eine mehr oder minder große Zahl von Stärkekörnchen finden sich gleichmäßig durch dasselbe verteilt, nur die unmittelbare Nähe der Membran und des Kerns meidend") an den Polen der Kernspindel dünner wird und die Hauptmasse der Stärke sich zu zwei Ringen sammelt, die jederseits der Kernplatte gelagert sind. Je weiter die Kernplattenhälften an die Pole hervordrängen, desto dichter wird der Stärkering, sein innerer Rand dringt allmählich vor und es entsteht zuletzt eine ziemlich dicke geschlossene äquatoriale Platte. Nach Zacharias (1888, Sp. 39) sollen aber die

Stärkemassen nicht so weit in den Äquatorialplan vordringen, wie es Berthold angibt, somit entsteht nach ihm der Phragmoplast nicht aus dem Wandplasma.

Selbstverständlich gehen die Umlagerungen und Strömungen, mit denen uns Berthold zuerst bekannt gemacht hat, in gesetzmäßiger Weise vonstatten, wie aus den gegebenen Schilderungen, sowie aus den unten mitzuteilenden späteren Angaben hervorgeht. Sie spiegeln somit das Wechselspiel der bei der Karyokinese und Zytokinese tätigen, die Symmetrie verändernden Kräfte ab. Diese Phänomene dürften aber weniger auf durch bestimmte Plasmateile bewirkte morphogene Prozesse (Membranbildung) hinzielen, als mit den Symmetrieänderungen notwendig verknüpfte sekundäre Prozesse vorstellen.

Da die bei den Teilungsvorgängen tätigen Kräfte sehr allgemeiner Natur sein dürften, d. h. da sich die Teilung bei verschiedenen Spezies in prinzipiell übereinstimmender Weise abspielt, sind auch die dabei hervorgerufenen Umlagerungen und Strömungen im Plasma meistens überall von demselben Charakter.

Die Strömungen und Verlagerungen in Tierzellen und bei niederen Organismen kann ich hier nicht schildern. Betreffs der Pflanzen konnte Zacharias bei *Tradescantia* die Ergebnisse Bertholds bis auf die Herkunft des Phragmoplasten bestätigen. In einem Referat über eine Abhandlung von Doflein erwähnt Zacharias[1], „daß er die Wanderung der blassen Stäbchen“[2]) in den Wurzelhaaren von *Chara* „von den Polen der Kernteilungsfiguren zu ihrem Äquator, und die spätere Rückwanderung der Stäbchen in die Umgebung der Tochterkerne“ hat beobachten können.

Da die bei der Kernteilung beobachteten Strömungen und Verlagerungen in dem sich nicht in der Nähe des Kerns befindenden Plasma als sekundäre Phänomene zu betrachten sind, leuchtet es ein, daß sie, ohne daß dadurch der Verlauf der Kernteilung beeinträchtigt wird, auch mehr oder weniger ausgeprägt sein und unter Umständen völlig fehlen können. Sogar in demselben Objekt scheinen große Schwankungen vorkommen zu können. So gibt Samassa (1898) an, daß er während der Kernteilung in den Staubfadenhaaren von *Tradescantia* keine Strömungen im Plasma hat beobachten können.

§ 3. Der Phragmoplast.

Wir erwähnten oben, daß der „Phragmoplast“ nicht aus dem Wandplasma entsteht, sondern eher in Beziehung zu der Kernspindel

[1]) Bot. Ztg. 1901, Sp. 107. [2]) a. a. O. 1888, Sp. 55.

stehen dürfte. Wir wollen jetzt etwas näher auf diese eigentümliche Bildung eingehen.

Zuerst müssen wir einige allgemeine Bemerkungen vorausschicken.

Während der Zellteilung wird außer der Zellmembran nichts spontan neu produziert. Man verstehe mich hier recht! Es entstehen zwei Kerne aus einem, zwei Zellplasmen aus einem usw., aber es handelt sich hier einfach um Fortpflanzung durch Teilung, nicht um wirkliche, morphologische Neuschaffung. Die Zellwand entsteht aber bei höheren Pflanzen auf Grund morphogenetischer Vorgänge im Plasma.

Als Glieder der zyklischen Vorgänge, die zusammen den Teilungsprozeß bilden, treten einige morphologische Bildungen auf, die bestimmte, temporäre Funktionen haben, und welche sodann wieder vergehen. Sie differenzieren sich aus dem Plasma ev. durch Entmischungsvorgänge aus, aber besitzen keine mit dem Zellkern und den Plastiden vergleichbare Selbständigkeit. Diese Bildungen sind der Phragmoplast und die Kernspindel. Von diesen scheint der Phragmoplast diejenige zu sein, die meist zu deutlicher und von dem übrigen Plasma abgegrenzter Ausbildung kommt, und welche eine notwendige Funktion zu erfüllen hat, während der Kernspindel vielleicht nur eine sekundäre Aufgabe zukommt.

Wir gehen nunmehr zu einer näheren Betrachtung des Phragmoplasten über.

Nach den Angaben, die hierüber nach lebendem Material gemacht worden sind (vgl. 1912b, S. 280), scheint der Phragmoplast zur Zeit seiner typischen Funktion von dem umgebenden Plasma scharf abgegrenzt zu sein. In den fixierten Präparaten tritt die Begrenzung zwar nicht so scharf hervor, denn die Lichtbrechungsverhältnisse sind hier z. T. ausgeglichen, der Phragmoplast hebt sich aber durch seine andersartige Struktur von dem übrigen Plasma ab.

Schon oben beschäftigten wir uns ein wenig mit der Herkunft des Phragmoplasten. Wir konnten nicht mit Berthold behaupten, daß er aus in den Zwischenraum zwischen den Tochterkernen eingewandertem Wandplasma gebildet würde, jedenfalls konnten wir dies nicht als Regel annehmen.

Die meisten Verfasser behaupten, daß der Phragmoplast aus der Substanz der Kernspindel gebildet wird. Nach der Art Zacharias' diese Sachen aufzufassen (vgl. unten), entwickele sich der Phragmoplast aus dem „Mutterkernrest", er stelle den „Kernraum" dar. Nach unseren eigenen Untersuchungen (Kap. 1, 2) scheint die Substanz, aus welcher der Phragmoplast gebildet wird, in Beziehung zu dem Inhalt der hellen Aushöhlung, in der die Chromosomen in der Metaphase liegen, zu stehen. Allerdings läßt sich weder aus den Angaben in

der Literatur noch aus unseren eigenen Untersuchungen entnehmen, daß die Bildung des Phragmoplasten immer in derselben Weise verläuft.

Verschiedene Tatsachen und Überlegungen scheinen nun aber darauf hinzudeuten, daß seine Genese nicht besonders streng an den Charakter des Plasmas gebunden ist, daß der Phragmoplast vielleicht nur durch einen Entmischungsvorgang entsteht, wobei die im Plasma aufgeschwemmten Körner und Tröpfchen entfernt werden, und daß die helle Aushöhlung im Plasma, die die Kernfigur hinterläßt, vielleicht nur benutzt wird, weil sie selbst das Resultat einer Entmischung darstellt, und also die Bildung des Phragmoplasten erleichtern dürfte.

Das wenigstens anfangs relativ hyaline Aussehen des Phragmoplasten ist wahrscheinlich keine für die Membranbildung unerläßliche Eigenschaft, denn tatsächlich kann die Scheidewand, z. B. in Embryosackbelegen, auch ohne Phragmoplasten gebildet werden. Wie wir oben erwähnten, ist auch die hauptsächliche Bedeutung des Phragmoplasten darin zu suchen, daß in ihm eine ausgeprägte dizentrische Anordnung entsteht, die eine Zweiteilung der ganzen Zelle durch eine plane Wandung ermöglicht. Wir können ja beobachten, daß bei den höheren Pflanzen die Polplasmen meistens zu so schwacher Ausbildung kommen, daß sie zwar die Zweiteilung des Karyotins (des Chromosomenhaufens) zu Ende führen können (Kap. 6), aber keine ausgeprägte bipolare Symmetrie im ganzen Plasma herzustellen vermögen. Und damit eine plane Wandung entstehe, muß offenbar eine ziemlich ausgeprägte und feste Anordnung der dieselbe bildenden Substanzen vorherrschen.

Eine solche regelmäßige und konstante Anordnung des Materials wird nun statt dessen in dem Phragmoplasten erzeugt. Über die Mechanik dieses Geschehens können wir uns hier nicht auslassen. Hier wollen wir uns nur mit den dabei stattfindenden morphologischen Veränderungen bekannt machen. Jedoch sei erwähnt, daß der Phragmoplast deutlich unter dem Einfluß richtender Kräfte seitens der beiden Tochterkerne steht. Daher kann man sagen, daß in ihm eine dizentrische Anordnung zustande kommt, obwohl die Zentren (d. h. die Tochterkerne bzw. Chromosomenhaufen) außer ihm liegen, oder man kann jedenfalls sagen, daß das Material in ihm eine Orientierung in bezug auf zwei opponierte und gleich starke Zentren annimmt.

Als eine Folge des hierdurch entstandenen „dynamischen Gleichgewichts“, wie wir uns ausdrücken können, werden gewisse Partikel, die in dem Phragmoplasten erzeugt werden oder dort hineinkommen, in der Äquatorialebene akkumuliert.

Diese Akkumulation in der Äquatorialebene, d. h. in einer Fläche,

die in der Mitte zwischen den wirksamen Zentren (hier den Tochterkernen) liegt, scheint eine allgemeine Erscheinung zu sein, die kein besonderes Merkmal der Funktion des Phragmoplasten ist. Wir sahen ja oben, daß ähnliche Platten im Plasma der Makrosporenmutterzellen von *Isoëtes* entstehen, und in den Embryosackwandbelegen können auch ohne weiteres im Plasma zwischen den Tochterkernen Äquatorialplatten gebildet werden. Noch andere Beispiele solcher Äquatorialplattenbildungen könnten hier genannt werden, falls wir an die Tiere und die Einzelligen gingen, und ein naheliegender Fall ist ja die Äquatorialplatte, die von den Chromosomen gebildet wird. Die Akkumulation von Körpern in einer Äquatorialebene kann also immer eintreten, wo zwei Zentren eine gleich starke Wirkung auf eine Plasmamasse ausüben. Mit den hierbei in Betracht kommenden Kräften wollen wir uns etwas in Kap. 6 beschäftigen.

Die Äquatorialplattenbildung ist auch in dem Sinne eine allgemeine Erscheinung, daß die akkumulierten Körper sehr verschiedener Natur sein können. Dies sieht man besonders deutlich, wenn man die verschiedenen Typen der erwähnten Kraftkonstellation betrachtet, aber es geht schon aus dem Umstand hervor, daß in dem Phragmoplasten oder überhaupt bei der Zellplattenbildung die Elemente der Platte sehr verschiedener Herkunft sein können.

In *Chara* z. B. bildet sich nach Debski (1897) eine Zellplatte aus extranuklearen Nukleolen. Zacharias (1890) fand bei Untersuchung lebenden Materials die Zellplattenanlage bei *Chara* aus kleinen Körnern und größeren, länglichen, blassen Körpern, welche sich auch im übrigen Plasma befanden, gebildet. Bei *Hemerocallis* bestand auch die junge Zellplatte aus „kleinen, länglichen, blassen, zu einander parallel gerichteten Körperchen“. In meiner Arbeit über Kernteilung an lebendem Material (1912b, S. 280) habe ich einige Angaben Strasburgers und Treubs über die Zellplattenbildung im Phragmoplasten bei *Tradescantia* und *Epipactis* zitiert. Treub (1878, S. 18) konnte sogar die Einwanderung der „kleinen, lebhaft bewegten Körnchen“ beobachten.

Die primäre Zellplatte scheint also aus recht verschiedenartigem Material bestehen zu können, selbstverständlich kann es aber nicht entschieden werden, ob nicht in den einzelnen Fällen die Elemente derselben aus Substanzen bestehen, die für die später erfolgende Zelluloseausscheidung von Bedeutung sind.

Nach den Angaben der meisten Forscher entsteht die endgültige Scheidewand wie eine Zelluloseausscheidung in der erwähnten primären Zellplatte. Selbstverständlich sind wohl Variationen bei der Bildung der letzteren zulässig, so daß sie nach Umständen stärker oder schwächer entwickelt und auch wohl diskontinuierlich sein kann.

Aber offenbar müssen wir diese primäre Zellplatte als eine sehr zweckmäßige Einrichtung betrachten, die die Stabilität der Scheidewandbildung sichert. Denn die Zellulose wird nur allmählich ausgeschieden, und eine zusammenhängende Schicht wäre wohl schwierig ohne solche materielle Stützpunkte zu realisieren. Bei einer solchen Auffassung der Bedeutung der primären Zellplatte wäre es ohne Belang, ob sie aus Körpern zusammengesetzt würde, die in keiner chemischen Beziehung zu der Zellulosebildung stünden, aber die Tatsache, daß die Zellulosewand in der primären Zellplatte entsteht, scheint dafür zu sprechen, daß die Natur hier zwei Funktionen an ein Substrat gebunden hat, was natürlich auch das Zweckmäßigste ist.

Die Bildungsweise der Scheidewandung bleibt dieselbe, ob der Vorgang sich in einem Phragmoplast oder in einem gewöhnlichen Plasma abspielt, ein Beweis für die oben mehrmals betonte nur relative Bedeutung der erstgenannten Bildung.

Bei unserer Auffassung der Aufgabe des Phragmoplasten versteht sich auch, daß diese nach Umständen in verschiedener Stärke zur Ausbildung kommen kann und daß nur quantitative Verhältnisse darüber entscheiden, ob die Zellteilung simultan oder sukzedan erfolgt.

Zu dem von uns oben über die plasmatische Natur des Phragmoplasten Erwähnten kann noch folgendes hinzugefügt werden.

Die Tatsache, daß die Phragmoplasten verschieden stark ausgebildet sein können und daß sie bei freier Zellbildung in Embryosackwandbelegen zu fehlen pflegen, spricht vielleicht dafür, daß sie nur eine Art Fortsetzung des Kernraumes (der hellen Aushöhlung bzw. der Kernspindel) vorstellen und daß ihre besondere Ausbildung und Abgrenzung nur eine unmittelbare Folge dieses „zufällig“ aufgedrückten stofflichen Gepräges ausmacht.

Offenbar wird aber die Abgrenzung und der besondere Charakter des Phragmoplasten eben durch die lebhaften Wechselbeziehungen, in denen er mit den Kernen während der Scheidewandbildung steht, hervorgerufen, denn ist diese beendigt, so wird er blasser und verliert seine besondere Abgrenzung.

Die lebhaften Wechselbeziehungen, die während der Membranbildung zwischen den Tochterkernen und zwischen diesen und dem Plasma herrschen dürften, spiegeln sich fast immer in besonderen Anordnungen des letzteren ab. Es entstehen nämlich zumeist Strahlungen zwischen den Tochterkernen.

Solche Strahlungen wurden von Fitting in den Makrosporenmutterzellen von *Isoëtes* beschrieben (vgl. oben S. 469), und sie sind, nach allem zu urteilen, prinzipiell derselben Natur wie die „Polstrahlungen“ bei den Tieren, die wir als Bahnen für einen erhöhten

Stoffaustausch halten müssen, oder welche vielleicht auch in mehr energetischer Weise entstehen.

Bei den höheren Pflanzen vermißt man — wie vorher gesagt — in der Regel Polstrahlungen, und wir führten dies oben auf die hier weniger ausgeprägten Polbildungen zurück. Falls die Strahlungen als Stoffwanderungsbahnen zu betrachten sind, können sie nur bei einer entsprechenden zähen Konsistenz des Plasmas entstehen, denn ist dieses beweglicher, so kann es offenbar ebensowohl en masse strömen. Die Pflanzenzellen haben nun bekanntlich im allgemeinen ein mehr bewegliches Plasma als die Tierzellen, und dies kann möglicherweise eine beitragende Ursache des Fehlens von Polstrahlungen ausmachen. In Pflanzenzellen kommen ja auch — wie wir vorher geschildert haben — während der Vorgänge der Zellreproduktion bedeutende Umlagerungen im ganzen Plasmakörper vor, was natürlich dem Entstehen von Strahlungen hinderlich ist.

Vermißt man Polstrahlungen bei höheren Pflanzen, so scheinen dagegen ihnen entsprechende Phänomene in dem Phragmoplasten vorzukommen.

Die einzigen Beobachtungen, die hierüber an lebendem Material gemacht worden sind, rühren von Treub (1878) her. Ich habe (1912b, S. 280) seine Beobachtungen zitiert. Aus der Beschreibung Treubs geht deutlich hervor, daß die Streifen oder Fäden („stries“), die er gesehen hat, das Resultat von Strömungen sind.

Wie weit verbreitet solche in dem Zwischenraum zwischen den auseinanderweichenden Tochterkernen befindliche Dinge sind, läßt sich nun nicht mit Sicherheit sagen, denn die fixierten Präparate, in denen man fast immer Fäden zwischen den Tochterkernen sieht, sind für die Beurteilung solcher Dinge nicht besonders geeignet. Wir haben ja dies oben bei dem Bericht über die Polstrahlungen bemerkt. Die präformierten Strahlungen pflegen bei der Fixierung undeutlich zu werden, während statt ihrer artifizielle Fadenstrukturen entstehen können.

Jedoch sprechen verschiedene Argumente dafür, daß die in fixierten Präparaten beobachteten Verbindungsfäden wenigstens z. T. lebenden Strukturen entsprechen. Zuerst seien die erwähnten Beobachtungen Treubs angeführt. Dann hat man an die übereinstimmende Richtung aller Fäden zu denken: Sie stehen alle mehr oder weniger senkrecht auf der Zellplatte. Schließlich erwähnen wir die relativ bedeutende Dicke der Verbindungsfäden und den Umstand, daß sie manchmal nicht bis an die Kerne reichen, sondern nur eine äquatoriale Zone einnehmen.

Selbstverständlich können Artefekte leicht erzeugt werden, und wir haben daher anzunehmen, daß ein Teil der Fäden und Strukturen in den Phragmoplasten Ausfällungsprodukte aus einer fällbaren Lösung

darstellen. Hierfür kann der Umstand sprechen, daß die Phragmoplasten nicht selten stark fädig sind in Präparaten, die sonst nicht besonders gut fixiert sind (vgl. S. 465).

Auch treten wohl leicht Deformationen und Verschmelzungen der Elemente der primären Zellplatte unter dem Einfluß der Fixierungsmittel ein. Hier sei eine Beobachtung von Zacharias (1888, Sp. 56) erwähnt. Er sagt bei Besprechung einer Arbeit von Strasburger, daß es an Alkoholmaterial freilich zuweilen so aussieht, als ob die Elemente der primären Zellplatte seitlich miteinander verschmelzen, „die Untersuchung frischen Materials in Eiweiß oder lebenden Zellen zeigt jedoch selbständige Körperchen in der Zellplatte".

Da wir die Verbindungsfäden („Zellfäden") als das Resultat reger Wechselbeziehungen in dem Phragmoplasten definiert haben, folgt hieraus, daß diese Bildungen in wechselnder Anzahl und Gestalt oder überhaupt in verschiedener Weise ausgebildet sein können, obwohl sie immer eine gewisse, durch die Kraftkonstellation bedingte Orientierung einnehmen. Und da die primäre Zellplatte eben durch eine Wanderung von Partikeln in Richtung gegen die Äquatorialzone zustande zu kommen scheint, leuchtet es ein, daß unter Umständen die Elemente der Äquatorialplatte mit den Verbindungsfäden korrespondieren können. Strasburger (1882b) und Berthold (1886, S. 208) nahmen auch an, daß die Zufuhr von Substanz zu der Zellplatte in der Richtung der Verbindungsfäden vor sich ginge. Diese Annahme deckt sich aber kaum mit allen Tatsachen, denn, wie Treub, Zacharias u. a. nachwiesen, werden Körnchen der Zellplatte auch von der Seite zugeführt.

Unsere allgemeine Definition der Zellfäden als das sichtbare Ergebnis der in dem Phragmoplasten tätigen opponierten und zusammenwirkenden Kräfte läßt sich auch mit den Beobachtungen Zacharias' (1888, Sp. 56) vereinigen, daß die Körperchen in der primären Zellplatte nicht unmittelbar mit den Zellfäden korrespondieren oder wie Verdickungen derselben auftreten. Er sagt hierüber: „Daß diese Körperchen Verdickungen von Fasern sein sollen, welche erst nach Reagentienbehandlung in dem Mutterkernrest sichtbar werden, in welchem erstere schon im Leben deutlich zu erkennen sind, dafür liegt kein Grund vor". Tatsächlich haben Strasburger u. a. auch den Satz allzu dogmatisch getrieben, daß die Zellplatte nur durch äquatoriale Anschwellungen („Dermatosomen") der Zellfäden entstünde. Wir wissen überhaupt nichts über die physikalische Natur dieser Fäden, aber verschiedene Tatsachen sprechen dafür, daß sie — wenn sie präformiert sind — eher wie ein Ausdruck des Zustands einer unter dem Einfluß einer bestimmten Kraftkonstellation stehenden heterogenen Plasmamasse als wie feste Fäden aufzufassen sind.

Die tatsächlichen Belege für die Auffassung Strasburgers sind auch nach den kritischen Untersuchungen A. Fischers (1899) bedeutend entkräftet worden. Denn gesetzt den Fall, daß der Phragmoplast eine verdünnte Eiweißlösung enthielte, — was keineswegs unwahrscheinlich ist — so würden ja die Elemente der primären Zellplatte besonders leicht wie „Strahlenwecker“ funktionieren und so Bilder wie die von Strasburger vorgeführten vortäuschen können. Es ist auch nicht undenkbar, daß unter dem Einfluß des Fixierungsmittels die Elemente der Zellplatte in axialer Richtung ausgezogen würden und so falsche grobe Zellfäden hervorbrächten. Überhaupt soll man sehr vorsichtig bei einer morphologischen Verwertung der Fixierungsbilder des Phragmoplasten sein, denn die Beobachtungen im Leben sind ja zumeist negativ ausgefallen.

Bei unserer Definition der Verbindungsfäden, die unserer allgemeinen Auffassung der Zellteilungsmechanik (vgl. Kap. 6) entsprungen ist, spielen die besonderen morphologischen Erscheinungen in dem Phragmoplasten eine untergeordnete Rolle, und wir werden nicht überrascht, ob die „Fäden“ in Verbindung mit den Elementen der Zellplatte stehen oder nicht oder ob sie überhaupt nicht ausgebildet werden. Alles dies muß mit quantitativen Variationen zusammenhängen, also mit der Intensität der tätigen Kräfte, mit dem Gehalt an festen oder überhaupt aufgeschwemmten Partikeln in der hellen Grundmasse des Phragmoplasten, usw.

Während einerseits Verbindungsfäden nicht immer bei der Zellplattenbildung auftreten (vgl. *Isoëtes;* Embryosäcke), so werden sie anderseits in dem Phragmoplasten nur so lange erhalten, bis die Zellmembran angelegt ist. Dies deutet darauf hin, daß für das Zustandekommen der „Strahlen“ oder „Fäden“ eine offene Kommunikation, eine ungehinderte Wechselwirkung zwischen den Tochterkernen erforderlich ist. Durch die Anlage einer lückenlosen Zellulosehaut fällt offenbar eine notwendige, allgemeine Vorbedingung für die Entstehung von Strahlungen zwischen den Zentren weg. Daher sieht man bei sukzedaner Zellwandbildung, daß die Verbindungsfäden zuerst in der Mitte, wo die Haut zuerst ausgeschieden wird, verschwinden.

Hier pflegt auch das Plasma eine körnige oder grob vakuolige Struktur anzunehmen[1]). Die Elemente, die vorher unter dem Einfluß der richtenden Kräfte sich zu Fäden oder Zügen anordneten, zerstreuen sich nach der Schwächung dieser Kräfte und nehmen Anordnungen an, die durch die allgemeinen Gesetze für Emulsionen bestimmt werden. Ausnahmsweise können wohl dickere Stränge zwischen

[1]) Vgl. Strasburger 1880; Berthold 1886, Fig. 9, Taf. IV.

der Zellplatte und den Kernen persistieren. Strasburger (1880, S. 162) macht eine Angabe in dieser Richtung; jedoch ist es nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um Artefakte handelt.

§ 4. Spindelbildung. Allgemeines.

Nachdem wir uns jetzt mit den temporären morphologischen Erscheinungen im Plasma, die wir Polstrahlung und Verbindungsfäden, bzw. Phragmoplast nennen, bekannt gemacht haben, sind wir präpariert, auf eine Besprechung der umstrittensten Plasmadifferenzierungen während der Zellteilung einzugehen, nämlich auf die Probleme der Spindelbildung und der Struktur der Kernspindel.

Wir erwähnten in § 2, daß das Plasma bei bevorstehender Teilung sich häufig an dem Kern ansammelt. Die meisten Angaben hierüber beziehen sich zwar auf fixierte Präparate, aber auch im Leben hat man eine solche Ansammlung gesehen (vgl. S. 473f). Bei der Ansammlung oder Verdichtung des Plasmas um den Kern in fixierten Präparaten kann es sich auch um Artefakte handeln. Bei *Allium* z. B. fanden wir keine ausgesprochene Plasmaverdichtung um den Kern, Němec beschreibt dagegen eine solche in Kleinenberg-Präparaten, wobei es sich mutmaßlich um Artefakte handelt. Jedoch ist es natürlich nicht berechtigt, alle in fixierten Präparaten beobachteten Ansammlungen um den Kern in der Prophase für Artefakte zu halten.

Daß das Plasma in der Umgebung des Kerns eine Veränderung erfährt, geht schon aus der Beobachtung Flemmings (1879) hervor, daß um den Kern in „lockerer Knäuelform" sich eine helle Zone ausbildet, die auch im Leben sichtbar ist.

Nach einigen Forschern entwickelt sich die Kernspindel aus der Plasmaschicht in der Umgebung des Kerns. Nach Strasburger (1888, S. 101 ff.) entsteht die Spindel in den Embryosackbelägen bei *Galanthus nivalis* in folgender Weise. Die Spindelanlage kennzeichnet sich zuerst als eine Plasmaansammlung um den Kern. Dann beginnt sich diese Ansammlung spindelförmig zu strecken. Mit beginnender Streckung des Zytoplasmas zur Spindelform fängt auch die longitudinale Streifung derselben an hervorzutreten. Die Pole spitzen sich ziemlich scharf zu und treten bei weiterer Streckung der Zytoplasmamasse warzenförmig hervor. Der Kern wird allseitig von der gestreiften Zytoplasmamasse umhüllt. Um die Pole der spindelförmigen Figur zeigt sich das angrenzende Plasma stärker angesammelt als um die äquatorialen Teile derselben.

Die Ansammlung um den Kern steht in anderen Fällen in keiner näheren Beziehung zu der Spindelanlage. In den Wurzelspitzen von

Ephedra major sammelt sich nach Strasburger (1900) in der Prophase eine dünne faserige Schicht um den Kern. Die Spindel wird aber hier in Gestalt von Polkappen angelegt.

§ 5. Die heterotypische Spindelbildung.

Nähere Beziehungen zwischen der Ansammlung des Plasmas um den Kern und der Spindelanlage wurden namentlich bei der heterotypischen Teilung aufgefunden. Hier verläuft die Spindelbildung nach einem etwas andersartigen Schema als bei der vegetativen Kernteilung. Wir haben uns zwar im Vorhergehenden nicht mit der heterotypischen Kernteilung beschäftigt, da aber die meisten Angaben über Spindelbildung eben betreffs dieser Teilung gemacht wurden, und da die Art der Spindelbildung bedeutend mehr variiert als die der Chromosomenbildung, scheint es mir geeignet, hier auch auf die heterotypische Spindelbildung einzugehen.

Fast alle Forscher, die sich mit dem Studium dieser beschäftigt haben, geben an, daß in der Prophase die Kernmembran von einer filzartigen Schicht umgeben wird. Belajeff (1894) beschrieb diese Schicht als ein „konzentrisch um den Kern gewundenes Fadenknäuel", welches aus „der Kernwandung parallel in die Länge gezogenen Schlingen (Maschen) besteht". Strasburger (1895) konnte bei *Larix,* das das Objekt Belajeffs war, seine Angaben bestätigen, jedoch fand er die Filzschicht schwächer als Belajeff. Bisweilen konnte sie sogar fehlen (vgl. Strasburger 1895, Fig. 18, Taf. II). Eine Filzschicht wurde außerdem von folgenden Forschern beobachtet: Osterhout (1897) bei *Equisetum,* Mottier (1897) bei *Podophyllum* u. a., *Helleborus* (Mottier 1898), Juel (1897) bei *Hemerocallis,* Lawson (1898) bei *Cobaea scandens*, *Gladiolus* (Lawson 1900), *Iris florentina, Disporum Hookeri, Hesperaloe Davyi, Hedera Helix* (Lawson 1903), Byxbee (1900) bei *Lavatera,* Smith (1900) bei *Osmunda,* Osterhout (1902) bei *Agave,* Allen (1903) bei *Larix,* Berghs (1905) bei *Paris quadrifolia.*

In anderen Fällen konnte man bei der heterotypischen Teilung keine Filzschicht nachweisen, oder deren Auftreten blieb fraglich. So konnten sich z. B. Strasburger (1895), Farmer (1895, S. 56), nicht von der Anwesenheit einer solchen Schicht bei *Lilium* überzeugen, wo sie von Belajeff (1894, S. 438) beschrieben wurde. Die Spindel wird hier erst in der Metaphase angelegt.

Die Filzschicht um die Membran des Kerns in Sporenmutterzellen pflegt zu dem Zeitpunkt aufzutreten, wo diese Membran aufgelöst wird.

Auch bei der Auflösung der Kernmembran bei vegetativer Kernteilung pflegen ähnliche fädige Strukturen aufzutreten, obwohl

hier meistens weniger ausgeprägt und jedenfalls nicht in der Regel. Ich verweise auf unsere eigenen Angaben in Kap. 1, 2. Mottier (1898, S. 152) hat auch in der Prophase in vegetativen Zellen einen „kinoplasmatischen Filz“ um den Kern gesehen, der aber so fein und gleichmäßig sein soll, daß er nur bei sorgfältigster Färbung sichtbar wird. Strasburger (1900, S. 118) hat auch etwas ähnliches in den Zellen der in Entwicklung begriffenen Samenanlagen und Antheren beobachtet.

Es ist jedoch schwierig, zu sagen, ob hier nicht auch Kunstprodukte vorliegen. Daß zur Zeit der Membranauflösung eine konzentrische Schichtung um den Kern auftritt, läßt sich wohl so erklären, daß die Faktoren, die das Entstehen einer Membran zwischen Kernsaft und Plasma bedingen, nicht momentan zu wirken aufhören, woher aus einer von innen nach außen fortschreitenden Auflösung eine konzentrische, regelmäßige und nicht zusammenhängende Schichtung resultiert. Eine höhere morphologische Bedeutung kann jedenfalls diesen unregelmäßig auftretenden und nicht selten fehlenden Schichten oder Fäden nicht zugeschrieben werden. Wir haben sie — wie schon gesagt — für ein sekundäres Phänomen zu halten, das im Zusammenhang mit den membranauflösenden Tendenzen steht.

In den meisten mit der heterotypischen Spindelbildung sich beschäftigenden Arbeiten wird aber dieser Filzschicht eine wichtige Rolle zuerteilt, indem man sie für die erste Anlage der Kernspindel hält. Man glaubt eine zusammenhängende Entwicklungsreihe konstatiert zu haben, in welcher die mit der Kernwandung anfangs parallelen „Fäden“ sich mehr senkrecht gegen diese stellten und in verschiedener Weise gruppiert würden, so daß die bekannte multipolare Spindelanlage der ersten Reifungsteilung bei den Pflanzen entstünde.

Suchen wir aus diesem Gewirr von Fäden das Wesentliche der heterotypischen Spindelanlage herauszukonstruieren, so würde es etwa so lauten, daß diejenige Plasmaschicht, die die Kernwandung umgibt, und welche nach Auflösung der Membran an den Kernsaft grenzt, eine etwas andersartige Beschaffenheit als das übrige Protoplasma bekommt und Gestaltsveränderungen erfährt, die so aussehen, als ob stumpfe pseudopodienartige Vorsprünge in das umgebende Plasma hineingeschoben würden. Diese kegelartigen Vorsprünge, die der erwähnten Plasmaschicht im Querschnitt ein Aussehen geben, das an die „Corona“ der Sonne erinnert, gehen allmählich zusammen, so daß schließlich aus der multipolaren Plasmaschicht eine zweipolige Spindel resultiert.

Welcher Natur die erwähnte Plasmaschicht ist, kann nicht gesagt werden. Man bekommt aber den Eindruck, daß sie entweder durch einen Entmischungsvorgang entsteht oder daß der Kernsaft z. T. nach

außen transportiert wird und eine Veränderung des angrenzenden Plasmas verursacht, denn die Substanz, aus der die Spindelanlage gebildet wird, hat ein helleres und wesentlich anders strukturiertes Aussehen als das umgebende Plasma. Dagegen kann kaum gesagt werden, daß sie von diesem scharf abgesetzt ist. Jedenfalls wird keine einheitliche Membran gebildet, vielmehr pflegt die Substanz der Spindelanlage nach außen eine ähnliche Begrenzung anzunehmen wie diejenige, die zwischen Kern und Plasma zur Zeit der Membranauflösung herrscht. Die besondere Struktur der Spindelanlagesubstanz lehrt, daß sie von wesentlich anderer Natur als das Körnerplasma ist. Es handelt sich hier offenbar um zwei Plasmamodifikationen, die sich in stofflicher Wechselbeziehung miteinander befinden, aber sich nicht leicht miteinander mischen.

Daß rege stoffliche Wechselbeziehungen zwischen der Spindelanlagesubstanz und dem übrigen Plasma herrschen, erscheint mir aus dem Umstand wahrscheinlich, daß man die kegelartigen Vorstülpungen der ersteren als Pseudopodien zu betrachten hat. Daß sie wechselnd sind, geht schon aus der wechselnden Konfiguration dieser „Corona" hervor, und interessant ist in dieser Hinsicht folgende Bemerkung Lawsons (1903b, S. 91): „The fusion of the cones is probably a very rapid process, as the multipolar stages were only obtained from material fixed in field, immediately after being dissected from the plant. They are never found as frequently as the bipolar stage".

Welche Kräfte das Entstehen dieser sonderbaren Vorstülpungen bedingen, kann nicht genau gesagt werden, voraussichtlich handelt es sich aber hier um ganz allgemeine Relationen zwischen dem ganzen Körnerplasma und der Spindelanlagesubstanz, sonst würden wohl die Vorsprünge keinen so stumpfen, kegelartigen Charakter annehmen.

Anfangs haben diese Kräfte eine isotrope Wirkungssphäre, denn die Kegel sind etwa gleichmäßig über die ganze Oberfläche des Kerns verteilt. Unter der soeben genannten Voraussetzung heißt dies, daß das Plasma noch eine monozentrische Anordnung besitzt. Bald, und nach dem oben Gesagten sogar schnell, lokalisieren sich die Kegel an zwei entgegengesetzten Seiten des Kerns, und dies heißt, daß das Plasma jetzt eine dizentrische Anordnung erhalten hat.

In der vorhergehenden Darstellung sind wir notwendig in das Gebiet der Kernteilungsmechanik eingetreten, und ein vorausschender Leser gewahrt vielleicht schon jetzt die Grundlinien unserer Theorie. Für diesmal dringen wir aber nicht weiter darin vor. In methodischer Hinsicht ist es aber sehr interessant und belehrend, wenn wir darauf acht geben, daß wir uns bei der Besprechung der Spindelfiguren nicht auf eine so reine morphologische Betrachtungsweise wie bei den Kernstrukturen beschränken können. Dies hängt mit dem Umstand zu-

sammen, den wir schon in der Einleitung berührt haben, daß die Spindelfiguren als morphologische Bildungen von geringerer Bedeutung sind als die Kernstrukturen. Zahlen und besondere Strukturverhältnisse, die die so wichtigen Kennzeichen der letzteren ausmachen, spielen bei den plasmatischen Bildungen, die während der Kernteilung auftreten, gar keine Rolle. Niemand glaubt, daß die erwähnten Kegel der heterotypischen Spindelanlage in bestimmter Zahl auftreten, und, wie wir unten sehen werden, bedarf es sogar keiner ausgeprägt zweipoligen Spindel, um die Verteilung der Chromosomen in gesetzmäßiger Weise vor sich gehen zu lassen.

Gemäß dieser in mechanischer Hinsicht untergeordneten Bedeutung der auffallenden Variationen bei der Spindelbildung kann man den einzelnen Zuständen der Spindelfigur keine besondere morphologische Bedeutung zuschreiben, und es verrät nur eine schiefe Auffassung unseres Gegenstandes, eine fehlerhafte Würdigung der Tatsachen, wenn man z. B. die Spindelfasern zu morphologischen Bildungen ersten Ranges erheben will.

Die bei der Spindelbildung herrschenden Kräfte dürften, wie wir vorhin erwähnten, von allgemeiner und relativ einfacher Natur sein. Daher sind große morphologische Variationen unter der Vorbedingung zulässig, daß immer dasselbe Endresultat erreicht wird.

Kehren wir nunmehr, nach dieser der Klarlegung der Natur unseres in Betracht genommenen Gegenstands dienenden Abweichung, zu unserem eigentlichen Thema zurück, so stoßen wir zunächst auf eine ziemlich verwickelte Frage, nämlich die Natur und Bedeutung der Faserstrukturen in der Spindelsubstanz.

Die Spindelfasern in der heterotypischen Spindelanlage. Da niemand diese Bildungen im Leben hat untersuchen können, wird hier die faserige Struktur in fixierten Präparaten gemeint. Diese Erklärung macht uns sogleich argwöhnisch. Denn wir wissen ja, daß die bedeutend gröberen Polstrahlungen, die im Leben beobachtet werden können, häufig ziemlich schlecht fixiert werden und daß Fadenstrukturen durch Ausfällung aus homogenen Eiweißlösungen künstlich entstehen können. Wir sind also nicht imstande, die Naturgetreuheit der Spindelfasern in anderer Weise zu beurteilen, als daß wir die Argumente zusammenstellen, die für Präformation oder für artifizielle Herkunft sprechen.

Für eine Präformation der Fäden in den multipolaren Spindelanlagen bei der heterotypischen Teilung spricht der Umstand, daß diese Fäden z. T. nur in gewissen Richtungen verlaufen. In den „Kegeln“ pflegen sie nämlich meistens längsgerichtet zu sein.

Für artifizielle Herkunft spricht der Umstand, daß viele Fäden

kreuz und quer verlaufen und daß sie z. T. von Körnchen oder Unebenheiten ausgehen. Bei Mottier (1897, Fig. 32—34) sieht man einige Faserbündel an Körnchen ansetzen. Die Fig. 4 Taf. VI bei Juel (1897) erinnert lebhaft an die künstlichen Strahlenfiguren A. Fischers (1899). Viele Forscher geben auch an, daß die Fäden an Körnchen haften oder aus Körnerreihen bestehen.

Daß die Fäden in der Substanz der Spindelanlage wenigstens zum Teil artifizielle Bildungen sind, erscheint mir auch deshalb wahrscheinlich, weil man in denselben Präparaten, die die genannten Strukturen aufweisen, Strahlungen um die Ruhekerne oder um Körnchen im Plasma beobachtet hat. Eine radiäre Strahlung um den Ruhekern wurde von Belajeff[1]) bei *Larix*, Osterhout (1897) bei *Equisetum*, Mottier (1897, 1898) bei *Podophyllum* u. a., Allen (1903) bei *Larix* beobachtet. Mottier (1898) beobachtete Strahlungen von bestimmten Punkten im Zytoplasma („Zytoastern"). Schöne Strahlungen um Einschlußkörper im Plasma wurden von Bernard (1905) bei *Lilium* beschrieben. Auch in der Fig. 5, Taf. V bei Körnicke (1906) findet man schöne Strahlungen. Verdächtige Strahlungen sind auch mehrere andere, die in den erwähnten Arbeiten Mottiers abgebildet sind. Wir erwähnen diese Bildungen nur, weil sie von Mottier in Übereinstimmung mit Strasburger unter der sehr ungeigneten Benennung „Kinoplasma" geführt werden.

Im Leben können mutmaßlich Fäden oder Strahlen außer durch einfache Ausziehung bei dem Entstehen der Kegel auch in ähnlicher Weise, wie wir es oben bei dem Phragmoplasten geschildert haben, gebildet werden. Wir stellten ja die Behauptung auf, daß die Substanz, aus welcher die Spindelanlage besteht, sich unter dem Einfluß gewisser Kräfte befindet, die das Entstehen der Kegel bedingen. Diese Kräfte könnten in ähnlicher Weise wie bei dem Phragmoplasten besondere Anordnungen in dem Stoffinhalt herbeiführen, so daß eine gestreifte Struktur aufträte. Feste Bildungen können die Fäden jedenfalls nicht sein, denn die Kegel bewegen sich.

§ 6. Die vegetative Spindelbildung.

Ein Merkmal der heterotypischen Spindelbildung bei höheren Pflanzen ist die anfangs radiäre und allmählich bipolar werdende Anordnung der Spindelsubstanz. Wir führten dies darauf zurück, daß die dizentrische Anordnung im Plasma erst ziemlich spät ausgebildet wird (vgl. Kap. 6).

---

[1]) 1894; vgl. über *Larix* auch Guignard 1885, Schaffner 1898, Strasburger 1888.

In den vegetativen Zellen wird dagegen die dizentrische Anordnung des Plasmas, wie wir im Anfang dieses Paragraphen sahen, früh kenntlich, und in Übereinstimmung damit ist die Spindelanlage hier in der Regel von Anfang an zweipolig. Nur ausnahmsweise werden mehrpolige Spindeln gebildet, und werden solche mehrpolige Spindeln noch in der Metaphase erhalten, so tritt — wie zu erwarten — eine abnorme Distribution der Chromosomen ein. In Embryosackwandbelägen von *Galanthus nivalis* beobachtete Strasburger ausnahmsweise dreipolige (1888, Fig. 43) oder mehrpolige (Fig. 34) Spindeln. Auch bei der heterotypischen Teilung muß die Spindel bipolar oder wenigstens „diarch" sein. Mottier (1897, S. 179) hat unter vielen Tausenden von ihm studierten Spindeln „nur einen einzigen Fall bemerkt, wo eine dreipolige Spindel bis zu den Anaphasen erhalten blieb. In diesem Fall begaben sich übrigens nur ein oder zwei Chromosomen nach dem dritten seitlich gelegenen Pole". Da die typische Ausbildung der Spindel von einer dizentrischen Anordnung im Plasma abhängig ist, so leuchtet es ein, daß abnorme Spindeln immer zweckwidrig sind, denn eine mehrzentrische Anordnung im Plasma kann bei normalen Teilungen keine regelrechte Zweiteilung des Zellinhalts und des Kerninhalts zuwege bringen.

Die Art und Weise, in welcher die vegetative Kernspindel angelegt wird, kann auch ebenso, wie bei der heterotypischen Spindel, obwohl in etwas anderer Richtung, ziemlich wechselnd sein.

Ein besonderes Merkmal der vegetativen Spindelanlage außer dem, daß sie von Anfang an bipolar ist, besteht darin, daß sie von einer besonderen Membran von dem übrigen Plasma abgegrenzt zu sein pflegt. Es werden mit andern Worten in der vegetativen Prophase Polkappen gebildet.

Die Polkappen werden von allen Forschern in übereinstimmender Weise geschildert. Sie sind anfangs hyalin, an den künftigen Polen stärker entwickelt, wie schon der Name angibt, und werden erst allmählich mit longitudinal verlaufenden Fäden erfüllt. Polkappen wurden von uns bei *Allium Cepa* und *Vicia Faba* (Kap. 1, 2), und früher von Rosen (1894, S. 249) bei *Hyacinthus* u. a., Fulmer (1898, S. 239) bei *Pinus*keimlingen, von Němec (1898) u. a. bei *Solanum tuberosum*, von Grégoire und Berghs (1904) bei *Pellia epiphylla* usw. beschrieben. Němec (1899) gibt eine Zusammenstellung von Pflanzen, die Polkappen ausbilden, und bei Strasburger (1900, S. 118, 120) findet man auch einige hierher gehörige Angaben.

Die Polkappen können verschieden entwickelt sein. Bald stellen sie wahre Kappen an den Polseiten des Kerns vor, bald wird rings um den Kern eine Vakuole gebildet, die eine ellipsoidische Form hat, und deren große Achse die Polplasmen verbindet.

Ungeachtet, daß Polkappen bei vielen Pflanzen das erste Zeichen der Spindelbildung vorstellen, kommen solche bisweilen nicht vor. Wir erwähnten oben (§ 4) die Spindelbildung in den Embryosackwandbelegen von *Galanthus nivalis*, die von Strasburger beschrieben wurde. Hier werden keine Polkappen angelegt, sondern die Spindel entwickelt sich aus einer Plasmaansammlung um den Kern. Bei *Galanthus* und vielleicht immer in Embryosackwandbelägen hat also die Spindelbildung eine gewisse Ähnlichkeit mit derjenigen bei der heterotypischen Teilung, abgesehen davon, daß die Spindel im ersteren Falle von Anfang an bipolaren Charakter besitzt.

Auch bei Zellarten, die als Regel Polkappen ausbilden, kommen Schwankungen vor, derart, daß die Kappen ausnahmsweise sehr klein sein oder sogar fehlen können. Strasburger (1900, S. 118, 120) teilt einige Angaben hierüber mit. Grégoire et Berghs (1904, S. 213) fanden bei *Pellia epiphylla* Fälle, wo Polkappen nicht ausgebildet werden. In diesen Fällen soll sich statt dessen der Kern ellipsoidisch strecken. Diese Beobachtung ist interessant, weil wir bei *Allium* und *Vicia* etwas Ähnliches gefunden haben (vgl. S. 391 und 408.)

Die Variationen bei der Spindelbildung können noch weiter gehen, wie aus den Beobachtungen von Guignard (1891, Embryosackmutterzellen von *Lilium*), Went (1887, S. 222) und Strasburger[1]) hervorgeht. Sie haben nämlich Bilder gesehen, wo die fertige Spindel von der erhalten gebliebenen Kernwandung umschlossen blieb. Bei Pilzen u. a. ist dies bekanntlich eine normale Erscheinung.

Bei höheren Kryptogamen, die sonst ähnliche Kernverhältnisse wie die Phanerogamen aufweisen, vermißt man manchmal Polkappen. Bei *Equisetum* werden solche nicht gebildet (Němec 1900, S. 63). Auch bei *Chara* (Debski 1897, S. 236) werden keine Polkappen angelegt.

§ 7. Die Bedeutung der Spindel.

Sowohl allgemeine wie individuelle Schwankungen in dem Aussehen der Spindelanlagen kommen also vor, und da sie doch in allen Fällen prinzipiell ähnliche Spindeln hervorbringen, deutet das erwähnte Sachverhältnis darauf hin, daß die Spindel kein morphologisch wichtiger Körper ist, daß sie nur eine Lösung einer Aufgabe darstellt, die auch in anderer Weise befriedigend gelöst werden kann. Wir begegnen also hier wieder einem Zeichen der großen Allgemeinheit (dies Wort in dem S. 440 entwickelten Sinn genommen) der Kernteilungsprozesse, die mit ihrem unter den verschiedenartigsten Umständen immer gleichen mechanischen Charakter zusammenhängt.

---

[1]) (1888); vgl. auch Belajeff 1894, Fig. 2; Strasburger (1895), S. 169 (Pollenmutterzellen von *Orchis mascula*).

Wie die früheren Entwicklungsstadien der vegetativen Spindel, so kann auch der morphologische Charakter der fertigen Spindel sehr wechselnd sein. Und bei allen wechselnden Gestalten muß sie nur eine Eigenschaft konstant erhalten, nämlich ihre Zweipoligkeit, denn eben in der dizentrischen Anordnung des plasmatischen Materials liegt das allgemeine und unerläßliche Kennzeichen der Rolle, die das Plasma während der Kernteilung zu spielen hat. Und damit wir diese Rolle recht auffassen, müssen wir berücksichtigen, daß die Zweipoligkeit der Spindel kein streng morphologisches Kennzeichen in dem Sinne ist, daß diese wie eine wahre Spindel oder ein Doppelkegel aussehen soll. Die Kernspindel kann vielmehr beliebig gestaltet sein, also beliebig viele spitze Aussprünge besitzen, sofern nur diese in zwei diametral entgegengesetzten Gruppen gesammelt sind, die Spindel also nur ihre größte Ausdehnung zwischen den Polplasmen hat. Wir können diese Dinge zwar hier nicht vollständig entwickeln, schon bei Besprechung der heterotypischen Spindel erwähnten wir aber, daß die letzte Ursache der Entstehung der zweipoligen Spindel bei höheren Pflanzen (die also keine Zentrosomen oder dergleichen Bildungen besitzen) in einer dizentrischen Anordnung im Plasma zu suchen ist. Daß die Zweipoligkeit der heterotypischen Spindel erst in einem späteren Entwicklungsstadium erreicht wird, dürfte nach unserer Meinung folglich damit zusammenhängen, daß hier die dizentrische Anordnung im Plasma erst später erreicht wird; die Multipolarität der heterotypischen Spindelanlage wäre somit einfach durch die anfängliche Isotropie des Plasmas verursacht. Bei der vegetativen Teilung tritt aber die dizentrische Anordnung im Plasma früh auf, schon ehe die Spindel angelegt ist, und daher bekommt diese auch von Anfang an eine typisch bipolare Ausgestaltung.

Der Leser dürfte jetzt klar einsehen, daß das Essentielle bei der Anordnung der plasmatischen Teile während der Zellteilung die Bipolarität ist. Diese dizentrische Anordnung in dem Körnerplasma teilt sich der Substanz der Spindelanlage mit, so daß auch diese bipolar ausgestaltet wird. Daher wurden wir zu der Annahme geführt, daß eine gewisse Attraktion, eine Wechselbeziehung zwischen Körnerplasma und Spindelsubstanz herrsche.

Die bipolare Anordnung der Spindelsubstanz kann die treibende Ursache der dualistischen Verteilung der Chromosomenhälften in der Anaphase sein, aber offenbar kann die Chromosomenwanderung ebensowohl auf die dizentrische Anordnung im Plasma direkt zurückgeführt werden. Man kann, mit andern Worten, eine Attraktion, oder, allgemeiner gesagt, Wechselbeziehungen zwischen Polplasma und Chromosomen annehmen (vgl. Kap. 6).

In der Tat sprechen die unten zu erwähnenden morphologischen

Tatsachen für die letztere Behauptung, und wir haben demnach die Kernspindel vielleicht nur als ein vorteilhaftes Medium, einen geeigneten Raum zu betrachten, in dem die Manipulationen bei den Chromosomenverlagerungen ungestört fortlaufen können.

Die Ausbildung der Spindel kann nämlich mehr oder weniger vollkommen sein, und nicht selten hat der helle Raum, in dem die Chromosomen in der Metaphase liegen, eine so willkürliche Gestaltung und Begrenzung, daß man mit bestem Willen nicht von einer wahren Spindel reden kann. Wir haben solche Erfahrungen in reichem Maße bei unseren eigenen Untersuchungen gesammelt (Kap. 1 u. 2), und diese speziellen Erfahrungen lassen uns aus guten Gründen behaupten, daß mehrere Angaben und Abbildungen von schönen Spindeln in der Literatur nicht unbedingt dem allgemeinen Sachverhältnis entsprechen dürften. Wir wollen uns mit dieser Andeutung begnügen und keine eingehende Kritik anstellen, die, wie man versteht, in den Einzelheiten nicht eben leicht zu führen wäre. Wir zweifeln keineswegs daran, daß schöne Spindeln existieren, wir wollen nur feststellen, daß es auch Fälle gibt, in denen keine typischen Spindeln ausgebildet werden und die Kern- und Zellteilungen dessen ungeachtet gleich glatt vor sich gehen.

Offenbar ist die Substanz der hellen Aushöhlung in dem Plasma in der Metaphase in kernteilungsmechanischer Hinsicht homolog mit der wohl ausgebildeten Spindel. Diese Substanz unterscheidet sich von dem übrigen Plasma dadurch, daß sie nicht emulsionsartig, körnerfrei ist. Dagegen kann sie Fadenstrukturen enthalten, die in dieser oder jener Weise entstanden sind. Wahrscheinlich sind diese von dem Körnerplasma abweichenden Eigenschaften der Spindelsubstanz von großer Bedeutung für die Erhaltung der Chromosomen während der notwendigen Manipulationen in den Meta- und Anaphasen, denn im Körnerplasma werden sie, wie man weiß, schnell aufgelöst. Dieses sieht man schon, wenn sie an die Polplasmen gekommen sind. Die neuen Kerne entstehen ja eben durch partielle Auflösung, Vakuolisation der Tochterchromosomenhaufen. Nach meiner Meinung haben wir die Bedeutung der hellen Aushöhlung im Plasma bzw. der damit homologen Spindel oder kurzweg der Spindelsubstanz, wie wir zusammenfassend sagen können, in dieser chemischen Neutralität aber auch darin zu suchen, daß sie eine Konsistenz besitzt, die der ganzen Kernteilungsfigur eine gewisse Stabilität gibt.

Verschiedene Umstände sprechen dafür, daß die Spindelsubstanz ziemlich zähflüssig ist: 1. Sie stammt zum großen Teil aus dem Kern, und dieser besitzt eine sehr zähflüssige Konsistenz, worüber verschiedene Angaben vorliegen, die ich hier nicht zusammenzustellen brauche; 2. nach meinen Untersuchungen an lebendem Material muß

man annehmen, daß die Meta- und Anaphasefiguren recht stabil sind (vgl. 1912b, S. 252); 3. fassen die Zoologen (z. B. Carnoy, Hermann) die Spindel als ein ziemlich resistentes Gebilde auf.

Daß die Natur bei der Spindelbildung in erster Linie auf einen allgemeinen Endzweck hingezielt hat, geht schon daraus hervor, daß die Spindelanlage mit keinem besonderen morphologischen Bestandteil des Plasmas genetisch verknüpft wird. Wir haben ja oben geschildert, wie die Spindel als Polkappen angelegt werden kann, oder daß sie sich aus einer Plasmaansammlung um den Kern bildet, oder daß sie endlich nur den erweiterten Kernraum vorstellt. Der Zweck wird offenbar erreicht, wenn nur die Spindelsubstanz einen so großen Platz einnimmt, daß es Raum genug für die darin stattfindenden Chromosomenmanipulationen gibt.

Wir können sogar nicht behaupten, daß in stofflicher Hinsicht die Spindelanlagen, die aus Polkappen oder aus dem erweiterten Kern hervorgehen, übereinstimmend wären. Offenbar ist es namentlich von Wichtigkeit, daß gewisse Eigenschaften des Körnerplasmas fehlen, und die fertige Spindel wird jedenfalls zum größten Teil aus dem Kernraum gebildet, nachdem sich die diese umhüllende Membran aufgelöst hat. Die Spindelsubstanz kennzeichnet sich vornehmlich durch eine ziemlich große Armut an fällbaren Körpern. Der Kernsaft ist ja zu dem Zeitpunkt der Membranauflösung in dieser Hinsicht beinahe vollständig leer, und sicher ist es, daß der Kernsaft nicht auflösend auf die Chromosomen wirkt. In einem Spindelraum von derselben oder beinahe derselben Zusammensetzung wie der Kernsaft haben die Chromosomen also nichts Besonderliches zu befürchten.

Jedoch geht schon aus der unscharfen Begrenzung der Spindelsubstanz gegen das Körnerplasma hervor, daß von hier aus Stoffe leicht in sie eindiffundieren können, und tatsächlich kann man eine allmähliche Vermehrung von fällbaren Körpern in dem Spindelraum konstatieren.

Ebenso werden ja in den Polkappen, die anfangs ganz leer an fällbaren Körpern sind, allmählich Fäden sichtbar, was auf einen erhöhten Stoffinhalt hindeutet. Woher die Substanz der Polkappen ursprünglich kommt, ist nicht leicht zu entscheiden. Die meisten Forscher behaupten, daß sie aus dem Kern herausdiffundiert sei, und unsere Beobachtung (Kap. 1, 2), daß das Volumen des Kerns bei dem Wachstum der Polkappen häufig verkleinert wird, stimmt mit dieser Behauptung überein. Jedoch könnten wohl die fällbaren Stoffe, die in den Polkappen allmählich auftreten, vielleicht aus dem Plasma stammen, denn im Kernsaft kommen zu diesem Zeitpunkt solche nicht gelöst vor.

Daß diejenigen Kräfte, die nicht selten eine spindelförmige Gestalt

des hellen Raumes um die Chromosomen bedingen, allgemeiner Natur sind, geht daraus hervor, daß sowohl die Substanz der Polkappen, wenn solche vorhanden sind, wie die Substanz des Kerns (der Kernsaft), wenn Polkappen fehlen[1]), eine bipolare Ausziehung erfahren. In allen Fällen wird offenbar die bipolare Gestalt durch die dizentrische Anordnung im Plasma bedingt, die sich durch das Entstehen der Polplasmen kenntlich macht.

§ 8. Die Spindelfäden.

Nachdem wir uns nun mit den wichtigsten morphologischen Gestalten der Spindelsubstanz beschäftigt und auch die mutmaßliche mechanische Bedeutung derselben gestreift haben, bleibt auf die Einzelheiten in der Struktur der Spindel einzugehen. Es kann aber nützlich sein, vorauszuschicken, daß wir damit ein Gebiet berühren, das, wie wir schon im Anfang dieses Kapitels hervorgehoben haben, im allgemeinen nicht kritisch behandelt wurde. Wir haben daher, hier wie in vorher behandelten ähnlichen Fällen, so zu verfahren, daß wir die in der Literatur vorfindlichen Angaben durch unsere eigenen Ergebnisse beleuchten und zugleich nachsehen, inwieweit namentlich die Ergebnisse A. Fischers (1899) hier Berücksichtigung finden können.

Zuerst stellen wir fest, daß auch die Angaben in der Literatur in der Richtung gehen, daß die Kernspindel und namentlich die Pole derselben sehr verschieden gestaltet sein können. Bei *Galanthus* und *Fritillaria* (Embryosackwandbeläge) sitzen nach Strasburger die Spindelpole wie flache stumpfe Kegel auf den Tochterkernen und verschwinden dann. Belajeff (1894), Farmer (1895), Osterhout (1897), Mottier (1897, 1898) geben an, daß die Spindelpole entweder scharf zugespitzt oder abgestumpft sind. Häufig wurden auch mehrspitzige Pole beobachtet. Gehen wir so zu einer Betrachtung der Spindelfasern über.

In der Literatur hat man unter „Kernspindel" nur diejenige Figur, die durch die Spindelfasern gebildet wird, verstanden. Oben haben wir den Begriff Spindelsubstanz aufgestellt und meinen, daß die echte Kernspindel nur eine spezielle und freilich häufig auftretende morphologische Zustandsform dieser Substanz ausmacht. Diese erweiterte Begriffsstellung wird dadurch geboten, daß wir am lebenden Material keine Spindelfasern gesehen (vgl. 1912b) und auch in fixierten Präparaten häufig nur eine helle Aushöhlung im Plasma, aber keine typische Spindelfigur gefunden haben.

[1]) Vgl. hierzu die oben zitierten Angaben Grégoires et Berghs über *Pellia epiphylla*, sowie unsere eigenen diesbezüglichen Angaben in Kap. 1 u. 2.

Wir fanden bei unseren vergleichenden Untersuchungen (Kap. 1, 2), daß die Spindelfasern recht verschiedener Herkunft sein dürften, indem einige vielleicht präformiert sind, während andere als Fällungsprodukte betrachtet werden müssen usw., wie es im Anfang dieses Kapitels erwähnt wurde.

Besonders verdächtig müssen natürlich diejenigen Fälle sein, wo Fasern zwischen Körnchen im Plasma und Höckern an den Chromosomen verlaufen. Ich habe zahlreiche solche Fälle in Kap. 1, 2 (vgl. S. 398 und 420) erwähnt. Farmer (1895, S. 59) fand in den *Lilium*-Antheren, daß die Fäden in der Regel an den Spindelpolen „zu verschiedenen Punkten hin konvergieren. Und an den Punkten, wo sie zusammentreffen, liegen Körnchen verschiedener Größe". Außer diesen Körnchen sieht man aber auch andere ganz ähnliche, die in keiner Beziehung zu Spindelfäden stehen, „obwohl es nicht selten ist, daß ein Faserbündel den Hauptverlauf der Fäden verläßt und nach einigen der außerhalb liegenden Körnchen hin konvergiert"[1]. Die Körnchen sollen von Nukleolen stammen, auch sind sie „oft durch Plasmafäden miteinander verbunden, und dies ist namentlich bei den nahe den Enden der Spindel gebildeten der Fall". Wenn die Körnchen ungewöhnlich groß sind, was bei gewissen Varietäten von *Lilium Martagon* der Fall ist, beeinflussen sie die Spindelfasern mehr, als wenn sie klein sind. Wenn die Körnchen sehr zahlreich sind, kann die ganze Spindel unregelmäßig werden[2]. Auch Grégoire (1899) fand, daß die zahlreichen Körperchen, welche im Zytoplasma verteilt sind, einen Einfluß auf die Entstehung der Spindelfasern ausüben. Jedoch hat er keine Beziehungen zwischen der Lage dieser Körperchen und den Stellen, nach welchen die Fasern konvergieren, gefunden. Früher verwechselte man bekanntlich bei höheren Pflanzen gewisse Körper, die auf Grund der dizentrischen Anordnung im Plasma an den Polen angesammelt waren (§ 2), mit Zentrosomen, was zeigt, daß diese Körper in Beziehung zu den Spindelfasern standen.

Belajeff (1894) fand in den Pollenmutterzellen von *Larix* einen „Knoten", aus welchem ein Faserbündel entspringt, das gegen den Kerninhalt gerichtet ist. Guignard bildete bekanntlich prächtige „Sonnen" ab, die aber nach späteren Untersuchungen nur zufällige Bildungen waren[3].

---

[1] a. a. O. S. 60, vgl. Farmer, Fig. 17 u. 18, Taf. III.

[2] Vgl. Farmer a. a. O. Photogr. 18a—d.

[3] In der Kontroverse über die Zentrosomen bei höheren Pflanzen waren folgende Forscher mit beteiligt: Farmer (1895), Zimmermann (1896), Strasburger (1895, 1900), Schaffner (1895, 1896, 1901), Mottier (1897), Raciborski (1897), Demoor (1894), Guignard (1898), Yamanouchi (1901), Körnicke (1903, 1906), Bernard (1900, 1906).

Němec (1898) machte eine Zusammenstellung über das Vorkommen zentrosomenähnlicher Körper. Er unterschied dabei zwei Gruppen: Gebilde, die schon in ruhenden Zellen bestehen und bei der Kernteilung an die Pole transportiert werden, ferner Gebilde, die erst zur Zeit, wo die Spindel ausgebildet ist, an deren Polen auftreten und nach Fertigstellung der Tochterkerne verschwinden. Einmal sind es dichte, körnige, mit zahlreichen winzigen Vakuolen durchsetzte Plasmamassen, dann wieder sind es homogen erscheinende, öfters in mehrere Körperchen zerfallene, plasmatische Gebilde, ferner solche, die sich in der Färbung wie Nukleolen verhalten und zum Teil wohl auch echte extranukleäre Nukleolen sind. Daß ähnliche Bildungen sich besonders an den Polen ansammeln, hängt selbstverständlich mit der dizentrischen Anordnung im Plasma zusammen (vgl. S. 474). Körnicke (1903, S. 94) erwähnt, daß ihm häufig Fälle begegnet sind, wo „extranukleäre Nukleolen jene Stellen im Plasmaleib einnehmen, an welchen man ebenfalls Zentrosomen vermuten konnte. Auch können Anlagen von Chromatophoren hier und da in den Eizellen Stellungen einnehmen, welche an die von Zentrosomen erinnern, und so Anlaß zu Täuschungen geben". Polstellungen von Nukleolen fanden Němec und Mano in *Solanum*, Mano in *Phaseolus* und ich in *Cucurbita* (Kap. 2). Hier beobachtet man aber keine Beziehungen zwischen den bedeutenden Nukleolen und den Spindelfasern.

Bei *Larix europaea* fand Juel (1900) neben den Polen in der Embryosackmutterzelle Körneransammlungen. Bei *Chara fragilis* fand Debski zahlreiche nukleolenartige Körper an den Polen. In einigen Fällen sind die Spindeln hier mehrspitzig, „indem die Fasern nach einigen von den nukleolenartigen Körpern konvergieren"[1]. In den Anaphasen und Telophasen endigen die Verbindungsfasern vielfach bei kleinen Körperchen (Debski 1897, S. 239). Strasburger (1900, S. 128) fand in den strahlungsreichen Pollenmutterzellen von *Larix* kleine extranukleäre Nukleolen vornehmlich auf den Fasern verteilt, oder als Endpunkte der Fäden. — Daß die Spindelfasern häufig an die Chromosomen, und zwar vorwiegend an Vorsprünge, Höcker oder Schleifenwinkel derselben ansetzen, ist eine allbekannte Tatsache.

Alle die hier zitierten Angaben können bis zu einem gewissen Grade mit den von A. Fischer (1899) erhaltenen Resultaten verglichen werden. Die Körnchen usw. könnten als „Strahlenwecker" fungieren. Will man annehmen, daß die in erwähnter Weise befestigten Spindelfasern und Bündel Fällungsprodukte seien, so stehen auch nicht die Beobachtungen, die einige Forscher an *Solanum* und *Phaseolus* und

[1]) Debski 1897, S. 237, u. Fig. 13, 16, Taf. IX.

ich selbst besonders an *Cucurbita* gemacht habe, daß nicht immer Strahlungen von polständigen Nukleolen und Körnchen oder besonders von Körnchen in dem Körnerplasma ausgehen, im Wege. Die Spindelsubstanz dürfte für die Schaffung künstlicher Strahlungen besonders geeignet sein. Daß aber auch von Körnchen in dem übrigen Plasma Strahlen ausgehen können, haben wir bei *Allium* (S. 400) gesehen.

Wenn also Spindelfasern mutmaßlich durch Ausfällung entstehen können, so kann gleichwohl nicht ohne weiteres angenommen werden, daß alle Spindelfasern in dieser Weise entstanden sind.

Für Präformation scheint der Umstand zu sprechen, daß die meisten Fasern in Polkappen und Spindeln meridian verlaufen (vgl. § 5), auch wenn man in Erwägung zieht, daß wegen der dizentrischen Anordnung im Plasma die meisten strahlenweckenden Körper an den Polen gesammelt sind. Es muß jedoch immer eigentümlich erscheinen, daß so feine Fäden wie die Spindelfasern bei der Fixierung erhalten werden, während das Körnerplasma zumeist stark entstellt wird (vgl. S. 465). Man sieht ja häufig Spindeln mit fast graden Fasern in einem bedeutend deformierten Plasma liegen (vgl. S. 420). Möglicherweise können diese Beobachtungen auf eine ziemlich hohe Konsistenz der Spindel hindeuten (vgl. S. 494).

In einzelnen Fällen, wie bei den von mir bei *Allium Cepa* beobachteten körnigen Fäden zwischen den auseinanderweichenden Chromosomen, kann man mit ziemlich großer Sicherheit eine Präformation behaupten. Solche Fäden entstehen wahrscheinlich durch Ausziehung (vgl. S. 399).

Im Leben hat man freilich keine Spindelfasern gesehen, es ließe sich aber vielleicht denken, daß sie unsichtbar wären. Sie könnten in diesem Fall auch durch die in der Spindel herrschenden Wechselbeziehungen zwischen den Polen (Polplasmen) und den Chromosomen entstehen. Wir haben oben (§ 3) prinzipiell ähnliche Verhältnisse in dem Phragmoplasten geschildert. In solcher Weise könnten vielleicht Fasern zwischen den auseinanderweichenden Chromosomen und den Polplasmen entstehen.

Es ist nämlich unverkennbar, daß Attraktionskräfte zwischen den Chromosomen und den Polen herrschen und daß diese Kräfte allgemeiner Natur sind (vgl. S. 494 und Kap. 6). Unter dem Einfluß dieser Kräfte, die in meridionaler Richtung einsetzen, könnten wohl in der Spindelsubstanz vorhandene, suspendierte Substanzmassen sich in gewisser Richtung anordnen, und so Fasern vortäuschen. Wir können hier nicht näher auf diese Verhältnisse eingehen, es leuchtet aber ein, daß die erwähnten Attraktionskräfte, die zwischen den Polplasmen und den Chromosomen herrschen, sofern sie nicht reine Fernwirkungen sind, auch eventuell dazwischenliegende Teile beein-

flussen müssen, denn sie sind, wie schon gesagt, allgemeiner Natur. Das Medium könnte einfach seine Teile in eine Anordnung bringen, die diesem Kraftspiel entspräche, etwa wie in einem elektrischen Kraftfeld, oder es könnten auch wahre Mikroströmungen entstehen, den oben geschilderten Polstrahlungen analog, in welchem Falle die „Fasern" wie winzige Strombahnen aufzufassen wären.

Für unsere hier sehr kurz skizzierte Auffassung sprechen verschiedene Beobachtungen.

Zuerst können diejenigen Fälle, wo „Fasern" von an den Polen liegenden dichteren Plasmamassen oder Körnchen oder Nukleolenfragmente ausgehen, in Übereinstimmung mit dieser Auffassung auch so gedeutet werden, daß diese Bildungen, gemäß der allgemeinen Natur der besprochenen Attraktionskräfte, in eine infolge der dichteren Masse besonders hervortretenden Wechselbeziehung mit den Chromosomen treten und so Entstehung zu „Fasern" bezw. von diesen Stellen ausgehenden Substanzzügen oder Strombahnen geben.

Man begegnet häufig in der Literatur der Angabe, daß die Spindelfasern an polwärts gerichtete Vorsprünge der Chromosomen ansetzen. Diese Vorsprünge könnten unter dem Einfluß der erwähnten Attraktionskräfte ausgezogen sein, und die „Fasern" könnten an ihnen aus ähnlichen Gründen wie bei den zufälligen Plasmaeinschlüssen ansetzen. Tatsächlich weisen gewisse Beobachtungen auf eine energische Ausziehung der Chromosomensubstanz hin, so daß man versucht sein könnte, zu behaupten, daß die „Fasern" z. T. aus Chromosomensubstanz beständen. Man beachte z. B. die Fig. 1, 2, 7, Taf. IV, 3—11, Taf. V bei Bernard (1900). Ähnliche Verhältnisse hat Debski an den bei den Polen liegenden Körnchen bzw. Nukleolen beobachtet. „In einigen Fällen sieht man, daß einzelne Fasern in der Nähe dieser Körner dicker und stärker gefärbt sind als die anderen"[1]). Ähnliche Verhältnisse hat er bei der primären Zellplatte beobachtet. „Die Spindelfasern werden in der Nähe dieser Körper nicht selten stärker tingiert und erscheinen dick"[2]). „Es macht den Eindruck, als ob die Fasern aus diesen Körperchen ausgesponnen wären" (Debski 1897, S. 239).

Man versteht, wie kompliziert die Strukturverhältnisse in den fixierten Spindeln sind, am besten daraus, daß Fäden, wie wir dies oben geschildert haben, unter ähnlichen Verhältnissen, wie die soeben geschilderten, auch durch Ausfällung entstehen könnten.

Sowohl präformiert und in der vorhin erwähnten Weise entstanden wie Ausfällungsprodukte können diejenigen Fasern sein, die von Pol zu Pol verlaufen oder abweichend gerichtet sind (vgl. S. 400 und 420).

---

[1]) Debski, 1897, S. 237, Fig. 13, Taf. IX. [2]) a. a. O., Fig. 23, 24, Taf. IX.

Jedenfalls besitzen die Spindelfasern keine primäre mechanische Bedeutung. Sie können gänzlich fehlen, ohne daß die Kernteilung im mindesten beeinträchtigt wird. Daß sie entstehen, hängt, wie wir es oben und bei Besprechung der Strukturen in dem Phragmoplasten geschildert haben, mit sekundären Verhältnissen zusammen.

Morphologisch zwischen verschiedenen Arten von Spindelfasern zu unterscheiden, wie man es gemacht hat und noch macht, ist daher so ziemlich oder völlig sinnlos. Übrigens sind die in diesen Richtungen (natürlich nur an schönen Spindeln in fixierten Präparaten) gemachten Beobachtungen schon an sich recht widerstreitend. Folgende Literaturangaben seien erwähnt.

Strasburger (1880, 1882, 1884) und Flemming (1882) nahmen an, daß die Spindelfasern von Pol zu Pol verlaufen; Berthold (1886, S. 201) hat sich aber durch Behandlung von Alkoholmaterial von *Hyacinthus* mit 10% Sodalösung aufs bestimmteste davon überzeugen können, daß sie „jedenfalls zum größten Teil die Mitte der Kernfigur nicht durchsetzen, sondern hier endigen“. Strasburger (1888) bestreitet diese Angabe. Es ist aber schwierig zu verstehen, was er (1888, S. 146) damit meint, „daß nur in Präparaten, die während der Fixierung gelitten haben, die Spindelfasern wirklich unterbrochen sein können“. Flemming (1887, S. 432) konnte nichts anderes sehen, als daß die Spindelfasern in den Spermatozyten von *Salamandra* vollkommen kontinuierlich wären, „allerdings ist die Faserung so fein und so dicht, daß es nicht möglich ist, eine Einzelfaser ganz sicher von Pol zu Pol zu verfolgen“. Carnoy (1886) dagegen hatte so dicke Fasern beobachtet, daß sie sich leicht von Pol zu Pol verfolgen ließen. Die beiden letzteren Angaben lehren, daß man auch zoologischerseits verschieden dicke Fäden, die in verschiedener Weise entstanden sein können, gesehen hat. Zoologischerseits wiesen van Beneden (1883), van Beneden et Neyt (1887), Boveri (1887) nach, daß einige Fasern von Pol zu Pol laufen, die meisten aber in der Äquatorialebene endigen. Strasburger verläßt (1895, S. 179) seine frühere Ansicht und unterscheidet jetzt ebenfalls zwei Fasertypen. Hermann unterscheidet bei zoologischen Objekten zwischen „Halbspindeln“ und „Zentralspindeln“.

Wie schon im Anfang dieses Kapitels (§ 1) erwähnt wurde, wachsen die Schwierigkeiten, die Spindelliteratur kritisch zu verwerten, außerordentlich durch den Umstand, daß man fast immer von der unrichtigen Auffassung ausgegangen ist, daß die Spindelfasern eine mechanische Funktion hätten. Beobachtungen und Hypothesen gehen hier Hand in Hand. So betrachtete z. B. Strasburger (1888) die Spindelfasern als Stützorgane für die sich nach den Polen bewegenden Chromosomen, während er später (1895) der Muskelfaden-

hypothese huldigte. Schon van Beneden und Boveri stellten diese Hypothese auf.

Ich vermute, daß die vollständige Unmöglichkeit solcher Theorien hinreichend klar aus unsern eigenen Untersuchungen hervorgegangen ist, und daß man nach den oben angestellten kurzen Erörterungen versteht, daß die Fasern sekundäre Bildungen sind, die übrigens in sehr verschiedener Weise entstanden sein können. Wer dessen ungeachtet nicht die Unzulänglichkeit der Hypothesen über die Bewegung der Chromosomen unter Mithilfe von kontraktilen Fäden einsieht, den hoffe ich in einer späteren Arbeit vielleicht besser überzeugen zu können.

Fassen wir nunmehr das bisher über die Spindelfasern Gesagte zusammen, so bekommen wir folgende Möglichkeiten für ihre Entstehung:

1. Sie können bei den Lageveränderungen der Chromosomen und des Plasmas ausgezogen worden sein. Beispiel: die von mir in Fig. 11, Taf. II (1912b) abgebildeten Fäden (vgl. auch S. 399 und Fig. 15, Taf. XII).

2. Sie könnten unter dem Einfluß der allgemeinen Wechselbeziehungen zwischen den beiden Polplasmen oder zwischen diesen und den Chromosomen entstehen. Dabei könnten fadenähnliche Bildungen oder faserige Strukturen entweder als eine Versinnlichung des durch die erwähnten Beziehungen entstandenen Kraftfelds entstehen, oder es treten vielleicht unter dem Einfluß der lokalisierten Kräfte Strömungen ein, die reale Fasern vortäuschen. Es läßt sich kaum denken, daß die Spindelsubstanz als eine Folge ihrer inneren Beschaffenheit eine längsfaserige Struktur annähme, während dies bei gewissen entsprechenden Bildungen unter den niederen Organismen, z. B. bei den Zentralspindeln der Diatomeen, angenommen werden muß (vgl. Kap. 6).

Daß die durch die erwähnten Wechselbeziehungen entstandenen faserigen Bildungen mit Vorliebe an verdichtete Partien oder an extranukleare Nukleolen usw. ansetzen, dürfte damit zusammenhängen, daß diese Wechselbeziehungen durch die ganz allgemeinen stofflichen und energetischen Relationen zwischen Chromosomen und Plasma bedingt sind; daher müssen offenbar, da die Intensität des Stoffaustauschs und die Energiemenge mit der Masse und Dichtigkeit des Plasmas wächst, die dadurch hervorgerufenen sichtbaren Veränderungen in dem dazwischenliegenden Spindelmedium am stärksten zwischen den Polplasmen mit den darin befindlichen Körpern und den Chromosomen hervortreten.

3. Endlich können wohl Spindelfasern in reichem Maße bei der Fixierung entstehen, und viele der unter 2. erwähnten Fasern zwischen

Körpern im Polplasma und den Chromosomen dürften Ausfällungsprodukte sein.

Auch in anderer Weise als durch reine Ausfällung können selbstverständlich fadenähnliche Strukturen künstlich entstehen. Ich will auf eine nähere Schilderung dieser speziellen Möglichkeiten nicht eingehen.

Einige Forscher haben die Beobachtung gemacht, daß die Spindelpole (in fixierten Präparaten) bis an die Hautschicht reichen und hier in einer knöpfchenförmigen Anschwellung endigen. Allem Anschein nach handelt es sich dabei nicht um eine regelmäßige Erscheinung, und es soll bemerkt werden, daß man sogleich diese Beobachtungen in hypothetischer Weise ausgenutzt hat. Strasburger (1900, S. 149) behauptet nämlich, daß „die Hautschicht den Zellkernen einen besonders günstigen Stützpunkt für Ausführung ihrer Teilungsvorgänge bietet".

Eine Anschwellung und Verdichtung der Spindelpole bei höheren Pflanzen wurde schon von Strasburger (1888) beschrieben, und bei Guignard (1885, Fig. 6, 7, 10, 11, Taf. V) sieht man etwas ähnliches. Später versichert Strasburger (1900, S. 145), „daß die Fasern sich mit der Hautschicht verbinden, und man kann an der Insertionsstelle meist eine knöpfchenförmige Verdickung der Hautschicht beobachten". Besonders bei *Nymphea alba* wäre dies deutlich (1900, Fig. 156, 166, Taf. III). Eine ähnliche Befestigung der Spindel fand Strasburger beim zweiten Teilungsschritt in den Pollenmutterzellen von *Iris*-Arten, von *Funkia Sieboldiana, Butomus umbellatus, Lilium.* Bei anderen Pollenmutterzellen gelingt der Nachweis nicht. Ein Ansatz von Fasern an der Hautschicht wurde von Belajeff (1894, S. 433, 435) bei den Pollenmutterzellen von *Larix* geschildert. Osterhout (1897, S. 160) sah bei der Anlage der ersten Kernspindel in den Sporenmutterzellen von *Equisetum* einzelne Faserbündel bis zur Hautschicht reichen. Ähnliche Angaben machten Mottier (1897, S. 176) und Němec (1900, 1899, S. 320, 321).

Daß die Spindel in einem Knöpfchen bei der Hautschicht endet, ist an und für sich nicht merkwürdiger, als daß Fasern von Körnchen im Plasma ausgehen können (vgl. S. 400). Da kritische Untersuchungen nicht vorliegen, kann nicht gesagt werden, ob die Bilder, die in dem erstgenannten Fall erhalten wurden, Artefakte sind, oder ob wirklich die behaupteten Attraktionskräfte schon bei dem Plasma, das der Hautschicht anliegt, so groß werden können, daß reale Züge oder Fäden entstehen. Jedenfalls hat das Phänomen keine prinzipielle Bedeutung, und überhaupt scheinen, nach der in Kap. 1 (S. 390) angestellten Kritik der Untersuchungen Němecs über *Allium*, Fäden, die die Spindel mit der Membran verbinden, vielfach Artefakte zu sein. Die An-

nahme, die Strasburger, Němec u. a. machen, daß durch solche Fäden die Spindelfigur verankert würde, basiert ebenso wie Strasburgers Behauptung, daß „die Verteilung der Safträume zur Fixierung der Teilungsfigur beitragen könnte", auf sehr einfachen und sogar nicht mit den nächstliegenden Tatsachen übereinstimmenden Vorstellungen über die Zellteilungsmechanik.

Da wir den Spindelfasern nur eine sekundäre und morphologisch geringe Bedeutung zuschreiben können, und da ihre Existenz im Leben in den meisten Fällen sogar zweifelhaft ist (wenigstens bei höheren Pflanzen), bleibt die Frage von einem untergeordneten Interesse, ob sie aus Zytoplasma oder Karyoplasma bestehen. Besonders in den früheren Stadien der Karyokineseforschung beschäftigte man sich aber viel auch mit dieser Frage, und der Vollständigkeit halber wollen wir einige Angaben hierüber erwähnen.

Strasburger (1880, S. 329) glaubte, daß die Spindelfasern aus dem Plasma stammten. Er stützte sich dabei aber vornehmlich auf die Verhältnisse bei *Spirogyra*. Flemming (1882, S. 318 ff.) fand für Strasburgers Annahme keinen hinreichenden Grund. Jedoch scheint bei höheren Pflanzen Strasburgers (1882, 1884, 1888) Auffassung die richtigere zu sein. Er findet im Knäuelstadium bei *Fritillaria imperialis*, daß die Kernhöhle keinerlei geformte Bestandteile enthält, die für die Bildung der Spindelfasern bestimmt sein könnten (1888, S. 77). Flemming (1882, S. 323) bemerkt aber, daß in Essigmethylgrün- und Chromsäure-Safraninpräparaten zwischen den „chromatischen Fäden" nichts anderes als Kernsaft sichtbar wird, während man in Chromessigsäure auch „achromatische Stränge" beobachtet. van Wisselingh (1899, Fig. 4, 8) wies mittels seiner Chromsäuremethode feine Verbindungen zwischen den Knäuelfäden nach. Strasburger (1888) nahm aber sowohl Alkohol wie Chromosmiumessigsäure, Safranin wie Hämatoxylin und fand dessenungeachtet keine „achromatischen Bestandteile" im Kern im Knäuelstadium. Jedoch findet er in den Pollenmutterzellen der Liliaceen in der Diakinese „öfters vereinzelte feine Plasmastränge, welche die Segmentpaare verbinden"[1]. In diesem Fall nimmt er aber an, daß es sich um eingewanderte Zytoplasmafäden handelt. Also auch hier ein Spiel zwischen Deutungen und Tatsachen. Auch Tangl (1882), Guignard (1885) und Went (1887) nahmen die Herkunft der Spindelfasern aus dem Protoplasma an.

Das Bestreben, der morphologischen Herkunft der Spindelfasern nachzuforschen, muß als ziemlich verfehlt betrachtet werden, denn wie wir vorher gesehen haben, macht die Entstehung von solchen

[1] Vgl. Heuser 1884, S. 123, Strasburger 1884, S. 29.

Bildungen nur eine Antwort des Plasmas auf gewisse allgemeine Kräfte oder stoffliche Beziehungen aus, der Vorgang bleibt also von dem morphologischen und chemischen Zustand des ursprünglichen Materials in weitem Maße unabhängig. Daneben wissen wir ja, daß Fasern durch Ausfällung entstehen, und auch dabei ist die Herkunft des ausgefällten Materials für die Theorie der Zellteilung nicht primär von Wichtigkeit.

Sicherlich können Spindelfasern sowohl aus zytoplasmatischen wie aus karyoplasmatischem Material gebildet werden. Eine Vorbedingung ist nur, daß das Material fein verteilt und beweglich ist. Wenn wir sagen, daß die meisten Spindelfasern aus dem Zytoplasma stammen, heißt dies folglich nur, daß im Kern zur Zeit der Membranauflösung kein suspendiertes, fein verteiltes Material vorhanden ist, das in Übereinstimung mit den in der Metakinese tätigen Kräften angeordnet werden kann.

Die näheren Vorgänge bei der angegebenen Faserbildung können noch nicht erforscht werden, und so bleibt es unentschieden, ob das Material durch Einwandern bzw. Einschleudern von suspendierten Teilen aus dem an die Spindelsubstanz grenzenden Plasma in diese Substanz oder durch Ausfällung in demselben herbeigeführt wird. In den Polkappen sieht es in der Tat so aus, als ob Ausfällungsvorgänge nicht im Spiel wären. Man könnte in diesem Zusammenhang auch an die von A. Fischer (1899) beobachteten „Selbststrahlungen“ denken.

Daß unter Umständen nur eine beschränkte Zahl von Spindelfasern auftreten, und daß sie dabei an je einem Chromosom ansetzen können, ist nach dem vorher Gesagten nicht überraschend. Jedoch liegen natürlich nur Spezialfälle vor, wenn Guignard (1885), Strasburger (1880, 1888), Flemming (1880, 1887) u. a. angeben, daß die Zahl der Spindelfäden der der „chromatischen Elemente“ gleich wäre.

Daß man auch früher von gewissen Seiten verschiedene Herkunft der Spindelfasern angenommen hat, obwohl nicht in demselben Sinn wie wir, ersieht man aus folgenden Angaben. Flemming (1882, S. 431) unterscheidet zwischen zwei Möglichkeiten: entweder ist die Faserung aus „achromatischer Substanz“ entstanden, oder es ist Substanz in gelöster Form in den Kern aufgenommen und in demselben in geformte umgeprägt worden. „Derartige Umformungen“ — sagt Flemming — „von ungeformter Substanz in geformte, kommen bekanntlich in der lebendigen Zelle fortwährend vor“. Boveri (1887, S. 79) gibt an, daß die Fasern der Furchungsspindel des Eies von *Ascaris megalocephala* unzweifelhaft Plasmafäden sind, daß aber die Richtungsspindeln aus Kernsubstanz hervorgehen (vgl. auch van Gehuchten (1887), Kutschitzky (1888), O. Zacharias (1887).

Eine völlig durchgeführte morphologische Auffassung der

Bildung einer aus Spindelfasern bestehenden Spindelfigur vertreten Grégoire und seine Schüler. In *Pellia epiphylla* haben Grégoire und Berghs (1904) die Entstehung der Spindelfasern aus dem plasmatischen Gerüstwerk verfolgt, das sie offenbar etwa wie ein elastisches Schaumwerk, z. B. wie die bekannten Badeschwämme von Kautschuk, auffassen. Sie glauben, daß „l'orientation graduelle du réseau primitif existant dans les cellules quiescentes" beweist, „que 1° le fuseau n'est pas et ne peut pas être, ainsi que le pense Fischer, le résultat d'une „Selbst-" ou d'une „Fremdstrahlung", et que 2° le réseau cytoplasmique est naturel" (1904, S. 226). Es sei bemerkt, daß in den Figuren der genannten Forscher das Gerüst wie ein Fadenwerk aussieht, während es wenigstens z. T. ein Flächenwerk sein dürfte. Daß ein Gerüstwerk auch in dem lebenden Plasma vorhanden sein kann, bezweifelt wohl niemand, und wenn Grégoire und Berghs es naturgetreu konserviert hätten, wären sie wahrlich bewundernswert. Jedoch kann es höchstens ein Spezialfall sein, daß das Gerüstwerk so zusammenhängend und relativ unverrückbar (fest) wäre, wie es diese Forscher für *Pellia* angeben. Sonst wissen wir ja, daß die Konfiguration des Zytoplasmas wechselt. Daß Grégoire und Berghs eine Serie haben konstruieren können, die den Übergang von Plasmafäden zu Spindelfäden illustrieren soll, kann wohl nicht gegen unsere Auffassung über diese Dinge sprechen, denn die während der Karyokinese tätigen Kräfte beginnen von Null aus, um allmählich stärker zu werden. In der Metaphase und Anaphase wird der Höhepunkt erreicht. Da nun die Bildung von Spindelfasern (d. h. einer unbekannten Anzahl der in den Präparaten sichtbaren Fäden) eben von diesen Kräften abhängt, leuchtet es ein, daß man hier, wie bei der Polstrahlung, unabhängig von der speziellen Konfiguration des Zytoplasmas nur allmähliche Übergänge zwischen Ruhestruktur und Strahlungsstruktur finden kann.

Bekanntlich haben zoologischerseits Bütschli und besonders Rhumbler schon früher ähnliche Ansichten wie Grégoire ausgesprochen. Alle solchen Auffassungen, die auf die Annahme einer festen Plasmastruktur bauen, besitzen im besten Falle nur eine sehr spezielle Gültigkeit. Für eine allgemeine Theorie der Zellreproduktion können sie daher nicht in Betracht kommen.

Eine eigentümliche Auffassung über das Verhalten des Kerns zur Spindel wurde von Zacharias (1882) ausgesprochen. Er glaubte nämlich, daß der „Zellkern in ähnlicher Weise, wie solches für die Chlorophyllkörper bekannt ist, bei der Teilung dem Protoplasma gegenüber seine Selbständigkeit nicht aufgibt". „Allerdings hat man den Eindruck, als ob im ruhenden Zustand der Kern von einer Membran umgeben sei, welche später, beim Übergang in das Spindelstadium, verloren zu gehen scheint". Nach Zacharias bestände also die

Spindel ausschließlich aus Kernsubstanz, und er nennt sie auch „Kernraum". Augenscheinlich hat Zacharias mangelhaft fixierte Präparate benutzt. Tatsächlich besitzt die Spindelsubstanz unter Umständen eine deutliche äußere Begrenzung und auch ein höheres Lichtbrechungsvermögen als das übrige Plasma, jedoch ist die Begrenzung niemals ganz scharf und häufig undeutlich; der Kernsaft stellt zwar einen großen Teil, aber nicht die ganze Masse der Spindel vor, wobei übrigens ziemlich große Schwankungen vorkommen können, was damit zusammenhängt, daß die Spindelsubstanz keine an und für sich wichtige Substanz ist (vgl. § 7).

Mikrochemische Unterschiede können wohl gegenwärtig nicht ausschlaggebend sein, jedoch sind die von Zacharias in dieser Richtung angestellten Untersuchungen von einem gewissen Interesse. Er fand, daß die Spindelfasern in ihren Reaktionen mit den Plastinteilen des Kerns übereinstimmen. Ähnliche Ansichten über die Spindelbildung, wie von Zacharias, sind zoologischerseits von Hertwig (1887, vgl. auch Carnoy 1885) geäußert worden.

Zacharias (1902, S. 305 Anm. 3) hat eine Beobachtung gemacht, die für die Möglichkeit einer Entstehung der Spindelfasern durch Ausfällung zu sprechen scheint. Bei Plasmolyse der Pollenmutterzellen von *Larix* entstand unter Umständen ein Hof um das Plasma, und hierin wurde in einem Fall durch Alkohol ein Niederschlag erzeugt, der in seinen Reaktionen mit den Spindelfasern übereinstimmte. Im Zusammenhang mit dieser Beobachtung sei erwähnt, daß Osterhout[1]) in den Sporenmutterzellen von *Equisetum* nach dem Loslösen der Hautschicht von der Wandung bei den Tetradenteilungen in dem entstandenen Zwischenraum nach Präparation „tief violette Fäden, welche grobe Körner enthielten", beobachtet hat.

Zacharias (1902, S. 308) stellt einige Betrachtungen über die Spindelfasern an und ist der Ansicht: „insoweit für Pflanzen einwandfreie Beobachtungen vorliegen, hat die Substanz, welche die Kernräume in Teilung begriffener Kerne im Leben, abgesehen von den Chromosomen, erfüllt, ein Aussehen, welches der Annahme nicht widerspricht, daß diese Substanz eine homogene Flüssigkeit sei, in welcher zwischen den auseinanderweichenden Kernplattenhälften fädige Gebilde beweglicher Art auftreten können". Bemerkenswert sind auch die folgenden Auslassungen Zacharias'. „Naheliegend ist es in den bemerkenswerten Versuchen A. Fischers eine Erklärung dafür zu suchen, daß die Substanz der Kernräume nach der Behandlung mit bestimmten Reagentien eine längsfaserige Struktur zu zeigen pflegt. Selbstverständlich kann jedoch nicht behauptet werden, daß

[1]) 1897, S. 162, Fig. 11 u. 12, Taf. I, 13—16, Taf. II.

dort, wo man bisher im Leben keine Spindelfasern gesehen hat, dergleichen auch nicht vorhanden sein können. Ebensowenig gestatten aber auch die vereinzelten Beobachtungen fädiger Gebilde in Spindelzuständen lebender tierischer Kerne den Schluß, daß Spindelfasern überall dort in lebenden Teilungsfiguren vorhanden sein müssen, wo man sie nicht sieht".

Schlußbemerkungen. Wenn wir auf unsere Besprechung der Veränderungen in dem Plasma, der Spindelsubstanz und dem Phragmoplasten zurückblicken, bekommen wir sicher den Eindruck, daß dieselben einerseits für die Mechanik der Teilung von großer Bedeutung sind, während sie sich andererseits als recht variabel gezeigt haben. Es scheint weniger auf spezielle Konfiguration wie auf prinzipielle Substanzanordnungen und Verlagerungen anzukommen. Die spezielle Morphologie der Spindel, des Phragmoplasten usw. hat daher einen recht anderen Wert wie die spezielle Morphologie der Chromosomenbildung, obwohl auch hier Variationen vorkommen (vgl. 1912c). Man findet in der Spindelsubstanz und in dem Phragmoplasten Dinge, nämlich die Spindelfasern, die sehr variabel sind und nur als Sekundärphänomene betrachtet werden können. Unsere vorhergehenden Erörterungen haben gezeigt, von welcher verschiedenen Herkunft die Spindelfasern sein können. Und im Zusammenhang damit soll die Methodik der Konservierung und Färbung, die — wie wir gesehen haben — niemals ganz zuverlässig ist (vgl. auch 1912a), beachtet werden. Man wird aber für die Mängel der Methodik einigermaßen dadurch entschädigt, daß die Details weniger wichtig als die Hauptzüge der studierten Veränderungen sind. Immerhin wäre doch ein näherer Aufschluß über gewisse Einzelheiten von Interesse, indem — wie wir schon vorher erwähnt haben — diese Einzelheiten in ihrer Variabilität und Beweglichkeit die Tätigkeit der karyokinetischen Kräfte abspiegeln. Ihr Studium wäre physiologisch wichtig. Die künftige Forschung wird sich daher bemühen, die Teilungsvorgänge möglichst genau im lebenden Zustande und experimentell zu verfolgen, während sie andererseits durch das Ausprobieren von spezifischen Plasmakonservierungsmitteln dieses Detailstudium sehr erleichtern würde.

Kapitel 6. Ausblicke auf die Mechanik der Zellteilung.

§ 1. Vorbemerkungen.

Bei einem so schwierigen Unternehmen, wie alle diejenigen Erscheinungen, die im ganzen Organismenreich zwecks der Fortpflanzung der Zelle von der Natur erfunden wurden, in ein einheitliches Bild zusammenzufassen, reicht es selbstverständlich nicht aus, nur die

Teilungsvorgänge bei den höheren Pflanzenzellen oder den höheren Tierzellen zu analysieren.

Eine Theorie der Zellteilung muß in sich alle Tatsachen, die über die Reproduktion der Zellen bekannt sind, sei es bei einer einfachen Amöbe oder bei einer hochstehenden Pflanzen- oder Tierzelle, aufnehmen. Denn alle Kern- und Zellteilungsvorgänge, wie außerordentlich verschiedenartig sie auch in morphologischer Hinsicht aussehen, haben doch etwas Gemeinsames. Durch die ganze Lehre von diesen Erscheinungen geht ein roter Faden, und dieser Faden, der alles miteinander verbindet, aber auch — bildlich gesprochen — so elastisch ist, daß bedeutende Variationen stattfinden und durch besondere Anpassungen gelenkte Mechanismen ausgebildet werden können, wird aus dem allgemeinen chemischen und physikalischen Charakter des Lebenssubstrats gesponnen. Denn alle Zellen, wie verschiedenartig ihre Gestalt und Struktur ist und wie verschiedenartig sie vielleicht im Speziellen funktionieren, bestehen doch zum wesentlichsten Teil aus dem Protoplasma, und dieses hat nicht nur immer einen physikalischen Charakter, der in sich die Beweglichkeit einer Flüssigkeit und alle die in einer solchen bzw. in einer Emulsion vorhandenen Mikroerscheinungen vereinigt, sondern alles Protoplasma dürfte gewisse Hauptfunktionen besitzen, die bei keiner speziellen Ausbildung völlig erlöschen. Und da die Zellteilung und Kernteilung eine der ursprünglichsten und unerläßlichsten Eigenschaften des Lebenssubstrats ausmachen, scheint hieraus zu folgen, daß diese Eigenschaften von Anfang an mit den genannten allgemeinsten Merkmalen des Lebenssubstrats verknüpft und von diesen abhängig gemacht würden, obwohl selbstverständlich bei immer fortschreitender Ausbildung der in dem Wesen des Lebenssubstrats enthaltenen absoluten potentiellen Fähigkeiten sie zwecks der Ausführung z. B. so komplizierter Manipulationen wie bei der indirekten Zellteilung der höheren Organismen, eine besondere Komplikation erhalten haben müssen, die unter Umständen durch Eintreten neuer, aber dennoch im obigen Sinn allgemeiner Faktoren erreicht wurde.

In der Tat zeigt auch die Phylogenie der Kernteilung keinen geraden und von Anfang an zielbewußten Verlauf, sondern, wie die Mannigfaltigkeit der Teilungsmodalitäten bei den Protisten lehren, wurden hier eine ganze Menge Typen oder Schemen ausgebildet, aus denen wiederum durch Kombination und Auslese die indirekte Zellteilung der höheren Organismen realisiert wurde. Daher läßt sich keine unmittelbare Anknüpfung zwischen der direkten Teilung oder Fragmentation des Kerns und der Zelle und der komplizierten indirekten Kern- und Zellteilung entdecken oder herauskonstruieren.

Der Teilungsvorgang der höheren Zellen zeigt vielmehr einen Mechanismus, der zwar in diesen oben erwähnten allgemeinen Eigenschaften des Lebenssubstrats fußt, aber in sich mehrere Vorgänge oder Fäden sinnreich vereinigt. Die Vorgänge im Kern in der Prophase weisen ja keine nähere Verbindung mit dem Teilungstrieb des Zellenleibes auf, was man z. B. daraus ersieht, daß Spireme in „ruhenden Kernen" entstehen oder erhalten werden können (*Chironomus*, Balbiani 1881; *Drosera*-Tentakeln, Rosenberg 1909). Erst wenn innerhalb der intakten Kernwandung die Chromosomen zu voller Ausbildung, darin die Zweiteilung derselben einbegriffen, gelangt sind, wird die Begrenzung zwischen Kern und Plasma aufgehoben und die mittlerweile ausgebildeten Anordnungen im Plasma (Polplasmen bzw. Zentrosomen) greifen ein, um die entscheidende Zweiteilung des Chromosomenhaufens zu vollführen.

Eine Betrachtung niederer Entwicklungsformen der Zellen lehrt auch, daß die Vorgänge innerhalb des Kerns, die bei den höheren Pflanzen in der Erreichung einer sehr guten und genauen Zweiteilung des Karyotins enden, allmählich ausgebildet wurden, ehe noch der ganze Mechanismus zu einer solchen Feinheit und inneren Zweckmäßigkeit erhoben wurde, daß diese Vorgänge in vollem Maße für den bei den höheren Organismen erreichten Zweck ausgenutzt werden konnten. Eine Ausbildung fädiger Strukturen im Kern kann weit hinab nachgewiesen werden, ohne daß anscheinend ursprünglich eine genaue Halbierung des Karyotins beabsichtigt war. Bei etwas höherer Ausbildung des Individuums geschieht sogar eine Zweiteilung der Kernfäden, die völlig der Zweiteilung der höheren Chromosomen entspricht, ohne daß jedoch die Teilhälften zu verschiedenen Polen gehen (vgl. *Noctiluca*, Doflein 1901, *Ceratium*, Borgert 1910, *Aucalantha*, Borgert 1900). Erst bei den höheren Organismen wurde die sinnreiche Verknüpfung zwischen den Teilungsvorgängen im Plasma und der Zweiteilung der Karyotinfäden zuwege gebracht. Durch welche stofflichen und energetischen Verhältnisse und Konstellationen die Verknüpfung ermöglicht wurde, kann allerdings nicht gesagt werden, ebensowenig wie heute die treibenden Ursachen irgendwelchen Geschehens während der Zellteilung kasual völlig erhellt sind. Es scheint mir aber nicht unwichtig zu sein, den Fäden nachzuforschen, die die Natur selbst in der Morphologie oder der physikalischen Natur dieser Erscheinungen bloßgelegt hat, um ihre Herkunft, oder auch nur den äußeren Zusammenhang zwischen allen diesen wechselnden, aber bei Modulation und sinnreicher Verknüpfung doch an sich ziemlich einfachen Geschehnissen zu ermitteln zu versuchen.

Allein wie wir erwähnt haben, wollen wir nicht in dieser Arbeit und in diesem Kapitel das umfassende Tatsachenmaterial zusammen-

tragen, das sich über die Morphologie der Teilungsvorgänge von den niedrigsten Protisten zu den höchsten Metabionten seit den Anfängen der Zellforschung angesammelt hat. Ich hoffe, eine andere Arbeit der Geschichte der Teilungsvorgänge widmen zu können. Hier will ich nur das Wesentliche meiner für diese Arbeit betriebenen komparativen Studien in kurzen Zügen darlegen und, obwohl ich mir der Kühnheit wohl bewußt bin, meine Schlußfolgerungen vorwegnehmen. Denn besonders die in Kap. 5 behandelten Tatsachen haben gelehrt, daß man überhaupt keine richtige Vorstellung von der Bedeutung der morphologischen Erscheinungen, namentlich bei der Teilung des Zellenleibes, bekommen kann, ohne zugleich auf die Mechanik einzugehen, die alle diese Struktur- und Lageveränderungen erst in Zusammenhang bringen und uns ihre relative Bedeutung erkennen lassen.

§ 2. Grundzüge einer Theorie der Zellteilung.

Alle Teilungsvorgänge in der protoplasmatischen Substanz basieren auf deren allgemeinen physikalischen Eigenschaften. Immer sind es mehr oder weniger flüssige Bildungen, die geteilt werden, diese mögen ganze Zellen, Kerne oder Chromosomen sein. Immer müssen Oberflächenspannungsverhältnisse mit im Spiele sein.

Obwohl folglich alle Teilungsvorgänge schließlich auf dieselben Erscheinungen zurückgeführt werden können, die den Zerfall eines leblosen Tropfens bedingen, gestalten sich die Verhältnisse im Protoplasma außerordentlich komplizierter, indem hier noch eine ganze Reihe Faktoren hinzukommt, die den Teilungsvorgang in den Dienst der protoplasmatischen Organisation stellen und seine Mechanik zu einem hohen Grad von Präzision und Feinheit emporheben. Ein lebloser Tropfen bleibt nämlich immer ein Spielball der wechselnden Verhältnisse in der Außenwelt. Seine Teilung hängt sehr stark von äußeren Beeinflussungen ab und verläuft fast immer unregelmäßig, indem der Zufall über Zahl und Größe der Teiltropfen bestimmt. Ganz anders verhält sich die Zelle. Hier sind die meisten Faktoren, die über die Teilung bestimmen, in derselben vorhanden, mit dem ganzen überaus feinen Betriebe verwebt, und daher wird nicht nur Zeit und Ort der Teilung beherrscht, sondern auch die Zahl der Teilungsprodukte und ihre relative Quantität hängt ganz von inneren Verhältnissen ab. Wir betonen diese entscheidende Bedeutung der inneren Verhältnisse, weil eben hierin der Gegensatz zwischen Teilungsvorgängen an lebenden und leblosen Tropfen am schroffsten zutage tritt; es soll selbstverständlich dabei nicht vergessen werden, daß die Zelle in Beziehungen zu der Außenwelt steht. Die Beschaffen-

heit der Umgebung spielt natürlich eine große Rolle, sowohl in Stoffwechselhinsicht wie rein physikalisch, z. B. durch Oberflächenspannungsverhältnisse.

Wir haben jetzt dasjenige vorgeführt, das die Teilungsvorgänge an lebenden und leblosen Tropfen und Zellen verbindet und unterscheidet. Während die übereinstimmenden Momente ohne weiteres klar sind, haben wir unsere ganze Aufmerksamkeit auf die Verschiedenheiten zu richten. Es lassen sich hier zwei wesentliche Punkte zur Betrachtung aufstellen. Der eine gilt dem Teilungsimpuls, der andere betrifft die Koordination und Komplikation der Zell- und Kernteilungsvorgänge. Diese Erscheinungen und Merkmale hängen mit der allgemeinen Organisation der Zelle zusammen und sind daher in der Realität häufig nicht getrennt.

Der Teilungsimpuls und die wichtigsten Merkmale der Zellteilung. Bei einem leblosen Tropfen kommt der Teilungsimpuls fast immer von außen. Wir erwähnen drei besondere Fälle.

1. Ein Tropfen kann durch Berührung mit einem festen Gegenstand zum Zerfall gebracht werden (vgl. die bekannten Versuche Roux's mit den Öltropfen). Die Mechanik dieses Vorgangs ist der in 2 ähnlich.

2. Ein auf einer nicht benetzbaren Fläche ruhender Tropfen kann nur eine bestimmte Größe erreichen. Die Schwerkraft strebt nämlich seine Substanz auf der Fläche auszubreiten; gegen sie wirkt die Oberflächenspannung; die zusammenhaltende Fähigkeit der Oberflächenspannung nimmt mit wachsendem Volumen ab; bei einer bestimmten Größe des Tropfens tritt daher sein Zerfall ein.

3. Ein in einer Mischung von Alkohol und Wasser schwimmender Öltropfen ist der einseitigen Wirkung der Schwerkraft entzogen und kann daher eine bedeutende Größe erreichen, ohne zu zerfallen oder seine Kugelgestalt zu verlieren. Wird er aber in Rotation versetzt, oder werden Strömungen in dem Medium hervorgerufen, so kann man ihn leicht zum Zerfall bringen.

Sucht man das Wesentliche der drei Fälle heraus, so findet man, daß die Teilung immer mit einer Deformation, einer Abweichung von der Kugelgestalt des Tropfens, zusammenhängt.

Die hier in Betracht kommenden mechanischen Verhältnisse sind in den Lehrbüchern der Physik geschildert, und wir brauchen hier nicht näher auf sie einzugehen. Maßgebend für den Vorgang ist die Oberflächenspannung und die Beweglichkeit der Moleküle (die Zähigkeit des Tropfens). Ein leichtflüssiger Tropfen zerfällt leichter wie ein zähflüssiger. Das Protoplasma, der Kern, die Chromosomen sind recht zähflüssig und wohl in der Regel in steigender Serie.

Dies ist offenbar eine wichtige Vorbedingung für vollkommene Ausbildung der protoplasmatischen Teilungsvorgänge. —

Im Protoplasma kommt der Teilungsimpuls in der Regel von innen. Das Protoplasma ist immer physikalisch heterogen. Der Teilungsimpuls besteht demgemäß in dem Hervortreten einer bestimmten Anordnung der inneren Teile. Dies ist eine allgemeine Regel. In den einzelnen Fällen ist aber die Aufgabe in sehr verschiedener Weise gelöst worden. Wir betrachten hier die Zellteilung und beginnen mit einem einfachen Fall. Aber schon in diesem einfachen Fall müssen wir uns mit den wesentlichen Grundzügen der Teilungsmechanik überhaupt auseinandersetzen. Die Art des Teilungsimpulses ist ja eins der wesentlichsten Merkmale der organischen Teilung.

Amoeba polypodia stellt einen Protoplasmatropfen vor, der einen im Zentrum belegenen Kern besitzt. Die Teilung geht in der Weise vonstatten, daß der Kern in die Länge gezogen wird und eine Fragmentation erfährt. Alsdann wandern die Tochterkerne auseinander, der Protoplasmatropfen wird in die Länge gezogen und schließlich in zwei annähernd gleiche Teile geteilt.

Der Anstoß zur Teilung des Zellenleibs liegt hier offenbar in der Kernteilung. Ehe wir den Teilungsimpuls selbst näher betrachten, wollen wir uns mit der Art bekannt machen, wie dieser Impuls auf das Plasma übertragen wird. Worauf kann es beruhen, daß die Anordnung des Protoplasmas von den morphologischen Manipulationen des Kerns abhängig ist? Diese Frage ist grundwesentlich, denn hier stoßen wir eben auf die Relationen stofflicher oder energetischer Art, die das Ineinandergreifen der einzelnen Vorgänge bei der organischen Teilung ermöglichen und überhaupt die Natur dieser Teilung bedingen.

Der Kern ist ein sehr wichtiges Organ der Zelle. Zwischen ihm und dem Protoplasma findet ein bedeutender Stoffaustausch statt, und er besitzt wohl immer, wie das Plasma, einen eigenen Stoffwechsel. Weil die Beziehungen zwischen dem Kern und dem Protoplasma so wichtig sind, wäre schon a priori zu erwarten, daß auch örtliche Beziehungen zwischen ihnen vorhanden wären. Dies ist auch beobachtet worden. Man hat gefunden, daß der Kern und das Plasma einander attrahieren, sodaß der Kern im allgemeinen in der Mitte der größten Plasmaansammlung zu liegen kommt. Die Frage ist freilich nicht so einfach, wie sie am ersten Blick erscheinen mag, denn das Protoplasma kann ja verschiedener Art sein, besonders in spezialisierten Zellen. In den tierischen Eiern z. B. besteht ein großer Teil des Plasmas aus Dottersubstanzen, und diese ziehen den Kern meistens nicht an. Man hat aber gefunden, daß das undifferenzierte, embryonale oder „aktive“ Plasma, wie es von einigen Autoren genannt wird,

immer eine Attraktion auf den Kern ausübt, und an diese Tatsache haben wir uns zu halten. Selbstverständlich bauen wir nicht direkt auf dieselbe. Es ist ja denkbar, daß die Attraktion unter besonderen Verhältnissen fehlen könnte, obwohl dies nicht festgestellt worden ist, und es ist sehr wahrscheinlich, daß sie je nach den besonderen Lebensumständen wechselt[1]). Wir legen nur Gewicht darauf, daß eine Attraktion zwischen Kern und Embryonalplasma, bzw. undifferenziertem Plasma vorkommt und daß sie im Dienst der zellulären Organisation steht.

Welcher Natur diese gegenseitige Attraktion ist, kann allerdings nicht genau gesagt werden. Hier kann sowohl Osmotaxis, wie Chemotaxis in strengerem Sinn mit im Spiel sein. Bei zwei Körpern, wie Kern und Plasma, die in lebhaftem Stoffaustausch stehen, kann offenbar Osmotaxis eine große Rolle spielen. Aber wahrscheinlich wird auch die auf einseitiger Beeinflussung der Grenzflächenspannung beruhende Chemotaxis in den Dienst der besprochenen Attraktionen gestellt. Wir können den Komplex der hier in Betracht kommenden taktischen Erscheinungen nicht näher analysieren. Hier haben besondere Untersuchungen einzusetzen.

Wenn Kern und Plasma einander attrahieren, müssen sie natürlich auch örtliche Beziehungen zueinander aufweisen. Die Ortsveränderungen des Kerns müssen auf die Verteilung des attrahierten Plasmas rückwirken und umgekehrt. In sphärischen oder tropfenförmigen Zellen stellt sich der Kern in die Mitte, sofern das Plasma isotrop ist. Bei von der Kugelform abweichender Gestalt des Zellenleibs tritt eine Summation der Attraktionskräfte aller Teile des Plasmas ein, sodaß der Kern in idealen Fällen (d. h. bei einem physiologisch isotropen Plasma) eine Stellung annimmt, die von den geometrischen Verhältnissen bestimmt wird. In den meisten Fällen, wo der Zellenleib nichtsphärisch ist, bildet sich aber eine besondere Ansammlung um den Kern, und das übrige Plasma ordnet sich in Übereinstimmung mit den Beziehungen zur Außenwelt und der geometrischen Form (vgl. Kap. 5, § 2). Man kann daher allgemein von einer Wirkungssphäre oder Attraktionssphäre des Kerns sprechen, deren Größe von der relativen Größe des Zellenleibs abhängt. Der Kern stellt sich so

[1]) Wegen der Komplikation der zellulären Organisation weisen natürlich das Plasma und der Kern auch Beziehungen zu Einschlußkörpern auf: sie hängen beide stofflich mit der Außenwelt zusammen; sie werden beide von der Schwerkraft beeinflußt. Daher wird z. B. in einer mit Vakuolen versehenen Pflanzenzelle das Plasma teils an der Wandung, teils um den Kern gesammelt; in Tierzellen wird die Lage des Kerns häufig von speziellen Zellprodukten beeinflußt. Diese Tatsachen ändern aber nichts an unseren allgemeinen Konklusionen.

ein, daß er mit der Hauptmasse des eigentlichen Plasmas in den günstigsten Wechselbeziehungen stehen kann. Bildlich gesprochen kann man sagen, daß er soviel Plasma wie möglich gleichzeitig „beherrschen" will.

Sind nun zwei Kerne statt eines vorhanden, so wird die Sachlage eine etwas andere, obwohl die Verhältnisse im Prinzip dieselben sind. Das vorhandene Tatsachenmaterial zeigt, daß die Kerne sich in der Regel so einstellen, daß sie auch jetzt so viel Plasma wie möglich beherrschen können. In ellipsoidischen Zellen stellen sie sich mit Vorliebe in die Brennpunkte. Die Lage der Kerne wird auch hier durch die Beziehungen der Kernsubstanz zum Plasma, zur Außenwelt bestimmt; ob auch eine gegenseitige Repulsion der beiden Kerne vorhanden ist, wissen wir nicht, zum mindesten dürfte sie nicht groß sein.

Wir haben uns ziemlich ausführlich mit den Beziehungen zwischen Kern und Plasma beschäftigt, weil eben in diesen Beziehungen das verbindende Moment zwischen dem Teilungsanstoß, wenn er, wie bei *Amoeba polypodia*, vom Kern ausgeht, und der Teilung des Zellenleibs zu suchen ist.

In der Amöbe, die einen einzigen Kern besitzt, stellt sich dieser unter günstigen Verhältnissen (d. h. bei relativer Ruhe des Plasmas) in die Mitte, und das Plasma ordnet sich um ihn herum monozentrisch oder radiär. Dies geht ohne weiteres aus dem vorher Gesagten hervor. Nachdem sich der Kern geteilt hat, wird Plasma an die beiden Teilkerne gezogen, und es muß eine dizentrische, bipolare Anordnung des Plasmas entstehen.

Es leuchtet ein, daß eine solche dizentrische Anordnung der Teile im Innern eines Flüssigkeitstropfens eine Teilung außerordentlich befördern muß. Ja, es ist sehr wahrscheinlich, daß schon das Vorhandensein einer solchen Anordnung in einer nackten Protoplasmamasse unwillkürlich zu einer Zweiteilung führen muß. Denn das Protoplasma ist jetzt in bezug auf die Kohäsionsverhältnisse anisotrop, und der Tropfen muß sich in die Länge ziehen. Dann hat nur die Oberflächenspannung das Werk zu vollenden. Die innere Lokalisation des Plasmas könnte auch aktiv lokale Veränderungen der Oberflächenspannung in der Äquatorialzone herbeiführen; bei den höheren Tieren scheint eine solche Beeinflussung der Oberflächenspannung, die eine von außen nach innen gehende Einschnürung des Zellenleibes bewirkt, vorzukommen; wir kommen später hierauf zurück.

Wir haben jetzt gesehen, wie der Teilungsimpuls auf den Zellenleib übertragen wird, und welche Kräfte hierbei tätig sind, und wir haben damit eine der prinzipiell wichtigsten Fragen der Zellteilung etwas erhellt. Es hat sich aber in unserem Beispiel nur um einen

der einfachsten Fälle gehandelt. In der Tat ist bei niederen und höheren Organismen sowohl die Art des Teilungsimpulses wie die Morphologie des ganzen Teilungsvorgangs in sehr verschiedenartiger Weise realisiert worden.

In unserem Beispiel, *Amoeba polypodia*, ging der Teilungsimpuls vom Kern aus, und nachdem der Kern geteilt war, ordnete sich das Plasma um die Teilkerne in dizentrischer Anordnung, weil Kern und Plasma einander anziehen. Es leuchtet nun ein, daß es für das Wesen des Teilungsvorgangs nebensächlich ist, von welcher speziellen qualitativen Art der Körper ist, der den Teilungsimpuls gibt. Eine unerläßliche Bedingung ist nur, daß der betreffende Körper die Hauptmasse des Plasmas anzieht, so daß er maßgebend für die Symmetrieverhältnisse in demselben wird. Bei den Protisten sind häufig besondere Nebenkerne und Zentrosomen vorhanden, die für die Zellteilung dieselbe allgemeine Funktion erfüllen wie der *Amoeba polypodia*-Kern. Bei den höheren Tieren geht der Teilungsimpuls ebenfalls von einem Zentrosom aus. Die beiden Tochterzentrosomen nehmen eine solche Stellung ein, als wollten sie das Plasma maximal „beherrschen", in ellipsoidischen Zellen stellen sie sich mit andern Worten in die Brennpunkte. Sie besitzen offenbar eine sehr lebhafte Einwirkung auf das Plasma. Dieses wird um dieselben strahlig angeordnet (Kap. 5, § 2). Ehe wir aber auf die Teilungsvorgänge bei höheren Organismen eingehen, haben wir an die wichtige Frage heranzutreten, von welcher Art die Mechanik des Teilungsimpulses selbst ist.

Die Frage ist in der Tat von schwierigster Natur. Einmal dürfte der Teilungsimpuls nicht immer von derselben Art sein. Und ferner betreten wir hier ein Gebiet, auf dem fast gar keine Untersuchungen vorliegen. Nur Berthold hat sich in seiner Protoplasmamechanik mit diesen Fragen beschäftigt. Um es kurz zu sagen: Es handelt sich hier um den Zusammenhang zwischen äußerer Gestalt und innerer Anordnung der Teile einer lebenden Protoplasmamasse. Daß Beziehungen zwischen Gestalt und innerer Morphologie überhaupt möglich sind, beruht auf dem Vorhandensein eines Stoffwechsels. Wir wollen jetzt unser Beispiel, den Amöbakern, in Angriff nehmen.

Wir machen die wahrscheinliche Voraussetzung, daß der Kern, obwohl er recht einfach gebaut zu sein scheint, mit einem gewissen inneren Stoffwechsel begabt ist; daß er in Stoffaustausch mit dem Protoplasma steht, waren wir schon vorher veranlaßt anzunehmen. Er dürfte ebenfalls nicht ganz physikalisch homogen sein; dies folgt schon aus seiner qualitativen Komplikation. Er besitzt Oberflächenspannung und schwebt im Plasma, wie der Öltropfen in einer Mischung von Wasser und Alkohol. Die protoplasmatische Organisation ist bekanntlich so eingerichtet, daß die Zelle ihr Volumen vermehrt, und

Plasmawachstum und Kernwachstum sind korrelativ verkettet, wie Beobachtungen lehren und wie es schon a priori aus den Voraussetzungen hervorgeht.

In der soeben entstandenen Tochteramöbe ist der Kern klein und rund. Daher muß auch in dem Kern eine isotrope Anordnung entstehen. Denn seine Teile befinden sich im Stoffaustausch miteinander und mit dem umgebenden Plasma. Die Bedingungen sind isotrop verteilt, und wir haben keinen Anlaß, eine autonome, anisotrope Verteilung der Kernsubstanzen anzunehmen. Es liegt also hier ein in morphologischer und physiologischer Hinsicht sehr harmonisches System vor. Die allgemeine Vorbedingung dieser isotropen harmonischen Anordnung im Kern war seine Kugelgestalt und die Isotropie des umgebenden Plasmas. Nun wissen wir aber, daß die neue Amöbe wächst, daß der Kern wächst und daß der Plasmaleib bei der Nahrungsaufnahme seine Gestalt fortwährend ändert. Alle diese Verhältnisse müssen auf eine Störung der Isotropie, der harmonischen morphologischen Anordnung hinarbeiten.

Indem der Kern wächst, wird es ihm immer schwieriger, seine Kugelgestalt in einem mechanisch und physiologisch anisotropen Medium zu erhalten. Die hier in Betracht kommenden physikalischen Verhältnisse wurden schon vorher erwähnt. Bei dem Heranwachsen der Amöbe muß immer ein Augenblick eintreten, wo der Kern zufällig etwas deformiert wird. Eine solche kleine Abweichung von der reinen Kugelgestalt könnte durch mechanische Beeinflussungen, Strömungen im Plasma usw., oder durch die von der unregelmäßigen Gestalt der ganzen Amöbe bedingte physiologische Anisotropie verursacht werden. Da der Kern zähflüssig ist, kann eine Gestaltsabweichung nicht sogleich ausgeglichen werden, zumal die Oberflächenspannung jetzt gegen ein größeres Volumen wirkt als in der jungen Amöbe.

Eine Abweichung von der Kugelgestalt muß aber aus denselben Gründen, die die vorherige Isotropie im Kern bedingten, jetzt eine andere Anordnung in demselben herbeiführen, und da diese vorher radiär, monozentrisch war, muß sie jetzt nichtradiär, mehrzentrisch, d. h. in der Praxis wohl immer zunächst dizentrisch werden; jedenfalls ist Gewicht darauf zu legen, daß eine nicht monozentrische Anordnung entsteht, denn die inneren Kohäsionsverhältnisse werden jetzt andere und die Kohäsion wird in gewissen Richtungen schwächer.

Es leuchtet ein, daß eine derartige Umstimmung in der Anordnung der Kernsubstanzen schon durch die Wechselwirkung zwischen Kern und Plasma hervorgerufen werden kann. Denn bei der Bewegung, der Nahrungsaufnahme der Amöbe, ändert sich ihre Gestalt fortwährend, und das Plasma ist fast niemals ganz isotrop im Hinblick auf seine Beziehungen zum Kern. Dieser muß demgemäß in der Richtung

der größten Ausdehnung des Plasmas mehr oder weniger angezogen werden.

Nachdem jetzt der Kern seine genaue Kugel- oder Tropfengestalt verloren hat, muß er sich früher oder später teilen. Dies kann schon aus den einfachen physikalischen Verhältnissen (vgl. S. 512, 515) mit Notwendigkeit folgen. Oder es kann mit der erwähnten neugeschaffenen inneren Anordnung und dem dadurch beeinflußten Stoffwechsel zusammenhängen. Der Teilungsimpuls selbst ist also kausal und sogar in zwei Modifikationen denkbar.

Aus dem Gesagten geht auch hervor, daß der Teilungsimpuls, d. h. der Zeitpunkt, bei welchem die Kernteilung beginnt, durch den ontogenetischen oder im allgemeinen durch den physiologischen Zustand der Zelle völlig beherrscht wird. Diese Beherrschung kommt durch eine ganze Reihe ineinanderlaufender und einander determinierender Einzelvorgänge zustande. Ich will es nicht versuchen, diese a priori vorausgesetzten geschlossenen Reaktionsketten näher zu schildern. Es sei jedoch auf folgende Momente hingedeutet. Oberfläche und Volumen wachsen in verschiedenem Verhältnis. Dies ist von großer Bedeutung, denn hierdurch dürfte erstens der Stoffwechsel beim Wachstum der Zelle allmählich verändert werden; zweitens wird beim Vermehren des Volumens die zusammenhaltende Kraft der Oberflächenspannung immer schwächer. Schon aus diesen Verhältnissen kann man sich eine Vorstellung über die Mittel verschaffen, deren sich die protoplasmatische Organisation für die Determinierung des Zeitpunkts der Teilung in dem ontogenetischen Entwicklungsgang bedient hat. Und es leuchtet ein, daß ähnliche Verhältnisse in allen Zellen den Teilungsmoment bestimmen könnten.

Bei allen diesen Auseinandersetzungen ist daran zu denken, daß in der Zelle, wegen ihrer außerordentlichen Kleinheit, Kräfte, wie Oberflächenspannung und Chemotaxis, kurz alle Kräfte, die mit der Abnahme der Dimensionen immer größere Herrschaft über die Masse bekommen, eine sehr große Bedeutung haben, was macht, daß Vorgänge schnell ausgeführt werden können unter Mitwirkung von Faktoren, die wir bei makroskopischen Erscheinungen, welche allein für die quantitative Analyse zugänglich sind, leicht vernachlässigen. Ein großer Teil der Rätselhaftigkeit, die den zellulären Erscheinungen anzuhaften scheint, hängt meiner Meinung nach eben mit diesen Verhältnissen zusammen.

Die oben für den Amöbenkern geschilderte Mechanik des Teilungsimpulses kann wohl auch als Erklärungsprinzip für viele andere Fälle dienen, wo der Anstoß zur Teilung des Zellenleibes von bestimmten Plasmaorganen ausgeht. Ich denke hier an die „Nebenkerne“ der Protisten und die Zentrosomen der Tierzellen. In allen Fällen, in denen die Zellteilung ähnlich, wie wir es geschildert

haben, von statten geht, erklärt sich der Teilungsimpuls aus Wechselbeziehungen zwischen dem Protoplasma und dem die Teilung dirigierenden Körper. Es ließen sich nun wohl auch Fälle denken, wo ein Zentrosom oder eine mit derselben Funktion begabte Bildung dank eigener physikalischer Eigenschaften geteilt würde. Es könnte sich um ähnliche Erscheinungen wie bei den sog. „flüssigen Kristallen“ handeln.

Die flüssigen Kristalle können sich bekanntlich teilen. Man kann sich die Mechanik dieses Vorgangs in folgender Weise vorstellen. Sie befinden sich hinsichtlich ihrer physikalischen Eigenschaften in einer Art Zwischenlage zwischen echten Kristallen und isotropen Tropfen. Die Kristalle besitzen, wie man meistens annimmt, nicht überall dieselbe Oberflächenspannung, sondern diese dürfte an verschiedenen Flächen eine verschiedene sein. Es leuchtet nun ein, daß, wenn an einem Tropfen, dessen Teile sich noch leicht verschieben lassen, die vorher überall gleiche Oberflächenspannung lokale Veränderungen erfährt — wie es eben bei dem allmählichen Übergang aus rein flüssigem in kristallinischen Zustand geschehen muß — der Tropfen seine Gestalt verändern muß. Und diese Gestaltsveränderung wird häufig in eine wahre Teilung resultieren.

Wir besitzen also verschiedene Erklärungsmöglichkeiten des Teilungsimpulses. In welchen Fällen die eine oder andere Möglichkeit wirklich in Frage kommt, kann allerdings nicht genau gesagt werden. Es scheint mir jedoch, als ob die Eigenschaften der flüssigen Kristalle erst bei relativ einfach konstruierten und funktionierenden Bildungen zu rechter Ausbildung kommen könnten. Körper, die, wie der Kern und gewisse Zentrosomen, mit einem eigenen Stoffwechsel begabt sind, sind wohl allzu heterogen, um sich in physikalischer Weise wie homogene Kristalle verhalten zu können. Hier dürfte also unsere erste Erklärungsmöglichkeit in Betracht kommen. Andererseits weisen die sonderbaren Gestaltsmetamorphosen gewisser „Teilungswecker“ auf ganz bestimmt gelenkte Kohäsions- und Oberflächenspannungsverhältnisse hin. Ich erinnere an den Entwicklungszyklus des Zentrosoms bei den Diatomeen (Lauterborn 1896), an das Verhalten vieler „Nebenkerne“, Nukleozentrosomen“ und „Sphären“ der Protisten, ohne jedoch hier näher auf diese interessanten Erscheinungen einzugehen.

In allen Fällen kann aber keine wahre Autonomie des Teilungsimpulses behauptet werden. Wir erwähnten oben, daß derselbe mit dem funktionellen Zustand der ganzen Organisation zusammenhängt und also zuletzt auf der Reaktionsfähigkeit der Zelle gegen die Außenwelt beruht. Dies muß auch da der Fall sein, wo in erwähnter Hinsicht die Eigenschaften der flüssigen Kristalle in Frage kommen. Denn damit

die Teilungserscheinungen an solchen Körpern rhythmisch wiederholt werden, sind rhythmisch wiederkehrende Bedingungen erforderlich, und diese würden hier von dem den betreffenden Körper umgebenden Plasma hergestellt.

Wir sind jetzt mit dem Zustandekommen des Teilungsimpulses in den Fällen bekannt gemacht worden, wo dieser Impuls von einem bestimmten Organ im Plasma ausgeht. Wir werden sehen, daß es auch Fälle gibt, wo das Plasma selbst den Anstoß zu seiner eigenen Teilung liefert. Über die bisher besprochenen Fälle gilt, daß die ganze zelluläre Organisation auf die Auslösung des Impulses eingerichtet ist, daß dieser aber an einen bestimmten Körper gebunden ist, der in allgemeinen Beziehungen zum Plasma steht, so daß die durch den Teilungsimpuls zuerst entstandene streng lokalisierte dizentrische Anordnung sich immer weiter verbreitet. Wir haben uns auch mit der allgemeinen Art der Beziehungen zwischen dem „Teilungswecker" und dem Plasma beschäftigt, und fanden, daß sie als Chemotaxis und Osmotaxis anzusehen sind. Selbstverständlich könnten sie auch anderer Natur sein, obwohl es am naheliegendsten ist, Chemotaxis und Osmotaxis anzunehmen. Wir haben bis jetzt jedoch nur zwei fundamentale Erscheinungen bei den organischen Teilungsvorgängen betrachtet. Es bleibt übrig, auf die Komplikation und Koordination dieser Vorgänge einzugehen.

Komplikation und Koordination der organischen Teilungsvorgänge. Es handelt sich nur in wenigen Fällen um die bloße Zweiteilung einer Protoplasmamasse. In der Regel ist die Zytokinese mit einer Karyokinese verknüpft. Die Karyokinese ist aber bei höheren Organismen ein sehr komplizierter Vorgang. Bei den höheren Tieren und Pflanzen, auf deren Betrachtung wir uns hier beschränken wollen, setzen sich folglich die Teilungsvorgänge in der Regel aus vielen koordinierten Einzelvorgängen zusammen. Und wie wir schon im § 1 angedeutet haben, bildet jeder dieser Einzelvorgänge einen Entwicklungszyklus, der nur teilweise mit den anderen in Verbindung tritt. Die Einzelvorgänge sind in dem morphologischen Teil unserer Arbeit geschildert. Hier wollen wir vor allem die Art des Zusammenhangs zwischen ihnen untersuchen.

Bei den Tieren, die Zentrosomen besitzen, können drei koordinierte zyklische Vorgänge unterschieden werden: 1. Die Vorgänge im Kern, als deren Resultat namentlich die Bildung einer Anzahl dualistisch gebauter Chromosomen zu betrachten ist; 2. die Teilung der Zentrosomen; 3. die Teilung des Zellenleibs. Von diesen Vorgängen scheinen 1 und 3 voneinander relativ unabhängig zu sein, während beide in naher Relation zum Vorgang 2 stehen.

Das Zentrosom ist ein kleines Ding, das wahrscheinlich mit einer

morphologischen Kontinuität und vielleicht auch mit einem eigenen Stoffwechsel begabt ist. In der Ruhe ist das Zentrosom meistens unscheinbar, es gelangt aber bei bevorstehender Teilung zu einem hohen Grad von „Aktivität“ und steht jetzt offenbar in lebhaften energetischen oder stofflichen Beziehungen zum Kern und Plasma. Denn die Kernfäden ordnen sich innerhalb der Kernwandung in deutlicher Abhängigkeit von der Lage des Zentrosoms (dies tun sie häufig — obwohl schwächer — schon in der Ruhe); das Protoplasma nimmt allmählich strahlige Anordnung an (vgl. Kap. 5, § 2).

Die Wechselbeziehungen zwischen dem Zentrosom und dem Plasma (bzw. dem Außenmedium) und das morphologische Ergebnis derselben haben wir schon geschildert: Die Tochterzentrosomen stellen sich so ein, daß sie gleichgroße embryonale Plasmamassen „beherrschen“, d. h. die soeben entstandenen Hälften werden auseinandergetrieben und rücken in gewisse Entfernung voneinander und von der Oberfläche. Es entstehen die im Leben beobachteten Strahlungsfiguren, die wir S. 465 zu erklären versucht haben, und das Plasma nimmt eine dizentrische Anordnung an. Die Erfahrung hat gelehrt, daß dieser Zustand für das Durchführen einer Zytokinese ausreichend ist. Denn man hat in entkernten Stücken von tierischen Eiern künstliche Zentrosomen hervorrufen können, und es zeigte sich dabei, daß diese Zentrosomen geteilt wurden und das Plasma zur Zwei- oder Mehrteilung brachten. Diese Beobachtungen sind sehr lehrreich, denn es geht aus ihnen hervor, daß — in Übereinstimmung mit unserer Theorie — die Zentrosomen nur allgemeine Funktionen zu erfüllen haben, und daß es weniger auf ihre spezielle physiologische Natur ankommt. Namentlich bedarf es prinzipiell keineswegs autonomer Zentrosomen, obwohl sie in besonderen Fällen autonome Bildungen sein können. Es ist sehr wohl denkbar, daß die Zentrosomen vor jeder Teilung aus dem Plasma, in der Nähe des Kerns, ausgeschieden werden, daß sie, mit anderen Worten, temporäre Bildungen wären. Nach Doflein (1901) scheinen sich die Sphären bei *Noctiluca* in dieser Weise zu verhalten. Und gesetzt den Fall, daß sie dergleichen temporäre Bildungen wären, folgt daraus keineswegs, daß sie keine besonders wichtige Aufgabe zu erfüllen hätten. In der Zelle ist nämlich alles so fein eingerichtet, daß bei den zyklischen Veränderungen des Stoffwechsels, die bei jeder Teilung stattfinden müssen, sehr wohl ganz spezielle Bedingungen hergestellt werden könnten, die ein mit besonderen Eigenschaften versehenes Zentrosom hervorgehen ließen.

Die Zentrosomen besitzen aber eine doppelte Aufgabe. Sie sollen auch in die Vorgänge im Kern eingreifen, oder richtiger: Sie setzen am Ende des Chromosomenbildungsvorgangs ein, um die Chromosomen nach den verschiedenen Polen zu befördern. Die Zentrosomen

üben anscheinend keinen Einfluß auf den Bildungsvorgang der Chromosomen selbst aus. Die Beziehungen zwischen den Zentrosomen und den Kernfäden sind aber schon in der Prophase zu beobachten, weil sich die letzteren häufig in bezug auf die Lage des Zentrosoms bzw. der Zentrosomen orientieren. Erst nach der Auflösung der Kernmembran setzt aber die eigentliche Wirksamkeit der Zentrosomen ein.

Über die Auflösung der Kernmembran und die Bildung der Äquatorialplatte haben wir in Kap. 3, § 4 gesprochen. Was die Äquatorialplattenbildung anbetrifft, die uns hier vor allem interessiert, so scheint sie nach unseren Beobachtungen, die sich wohl auch auf die Verhältnisse in den Tierzellen übertragen lassen, unter dem Einfluß zweier entgegengesetzter, zusammendrückender Kräfte vor sich zu gehen. Dies ist die nächstliegende Deutung der morphologischen Erscheinungen. Aber es ist noch eine offene Frage, von welcher Natur diese Kräfte sind. Dies ist völlig unbekannt, und man kann nur Behauptungen aufstellen. Nach den Erscheinungen in der Prophase zu urteilen, herrschen lebhafte Beziehungen zwischen den Zentrosomen und den Chromosomen, und es liegt wohl am nächsten, anzunehmen, daß diese Beziehungen chemotaktischer Natur sind. Wir müssen uns nun erinnern, daß die Bildung einer Äquatorialplatte zwischen zwei wirksamen „Polen" oder „Zentren" ein allgemeines zelluläres Phänomen ist (S. 480). Die speziellen Eigenschaften der Chromosomen, die aus ihrem dualistischen Aufbau entspringen, brauchen daher zunächst nichts mit der Anhäufung derselben im Äquatorialplan zu tun zu haben. Allerdings ist es recht schwierig, sich eine zutreffende Vorstellung von dem Vorgang zu bilden. Offenbar reicht es nicht aus, nur allgemeine positive oder negative Beziehungen zwischen den Polen und den Chromosomen anzunehmen. Billiger wäre es wohl, sowohl positive wie negative, d. h. Wechselbeziehungen zu behaupten. Denn bei reiner Anziehung würden die Chromosomen offenbar sogleich nach der Membranauflösung an die Pole gezogen werden; bei reiner Repulsion würden sie alle peripheriewärts in den Äquatorialplan getrieben, um schließlich einen Ring an der Zellwand zu bilden. Nehmen wir aber Wechselbeziehungen an, so ließe sich die allmähliche und regelmäßige Bildung einer zentralstehenden Äquatorialplatte verstehen. Diese Wechselbeziehungen sind denen zwischen den Zentrosomen und dem Plasma analog. In der Tat werden unter Umständen Substanzzüge, Strömungen, Strahlungen, Fäden zwischen den Polen und den Chromosomen gebildet, die den Polstrahlungen usw. ähnlich sehen (Kap. 5). Das Abplatten des Chromosomenknäuels und die Bildung der Äquatorialplatte können wir also auf wechselwirkende Beziehungen zurückführen, die in beiden Richtungen etwa gleich stark

sind, obwohl vielleicht die Repulsion zunächst ein wenig überwiegt. Wir haben es also hier mit Symmetrieverhältnissen zu tun, welche auch in anderen Fällen, wo es sich um Wechselbeziehungen zwischen zwei plasmatischen Bildungen und beweglichen Einschlußkörpern handelt, beobachtet werden. Bei der Chromosomenplatte hat man auch daran zu denken, daß sie in der zentral belegenen Spindelsubstanz liegt, und es ist nicht ausgeschlossen, daß diese es mechanisch verhindert, daß die Chromosomen nach außen gedrängt werden.

Von welcher Natur die erwähnten allgemeinen Beziehungen zwischen den Polen (den Zentrosomen) und den Chromosomen sind, läßt sich natürlich nicht mit Sicherheit sagen. Es kann sich hier vielleicht um stoffliche Beeinflussungen handeln, die in chemotaktischer Weise die Lage der Chromosomen bestimmen. Es ließe sich natürlich denken, daß wir es hier mit elektrischen Phänomenen zu tun hätten, und einige Forscher wollen dies entschieden behaupten. Jedoch stützen sie sich dabei nur auf S i m u l a c r a, denn die spärlichen experimentellen Untersuchungen über die Ladungsverhältnisse der Chromosomen und des Plasmas geben keine eindeutige Antwort. Chemotaxis dürfte — in Übereinstimmung mit der allgemeinen Organisation des lebenden Plasmas — das meistens in Betracht kommende motorische Moment darstellen, besonders wenn es sich hier — wie mehrmals erwähnt — um eine überall wiederkehrende Erscheinung handelt.

Bedeutend schwerer verständlich als die die Äquatorialplatte bedingenden Momente sind aber diejenigen, die die Manipulationen der Chromosomen in der Metakinese verursachen. Zunächst sei hervorgehoben, daß der dualistische Bau der Chromosomen (sie sind ja schon von der Anlage an gespalten) in keinem engeren Zusammenhang mit der Bildung der Äquatorialplatte steht. Wenn extranukleare Nukleolen vorhanden sind, pflegen auch diese in der Äquatorialebene angesammelt zu werden. Das Äquatorialplattenstadium dürfte aber einen gewissen Wendepunkt der Karyokinese darstellen; es scheinen hier Umstimmungen der tätigen energetischen, stofflichen oder Kraftkonstellationen vor sich zu gehen. Denn die Chromosomen, die vorher anscheinend von den Polen leicht weggestoßen und in dem Äquatorialplan gesammelt wurden, geben jetzt eine Hälfte an jeden Pol ab. Wo vorher Abstoßung oder jedenfalls keine bemerkbare Attraktion vorhanden war, macht sich jetzt eine lebhafte Anziehung bemerkbar.

Es ist schwierig, zu sagen, wo man diese Umstimmung der wirksamen Faktoren suchen soll. Man hat in der Metakinese in gewissen Fällen Strömungen im Plasma gefunden, in anderen Fällen nicht (vgl. S. 477). Wahrscheinlich haben wohl die Chromo-

somen den größten Anteil an der Umstimmung, aber da sie in Beziehungen chemotaktischer, elektrischer oder einer andern Art mit den Polen stehen, leuchtet es ein, daß auch diese sekundär beeinflußt werden. Wenn es sich um Wechselbeziehungen handelt, werden ja alle Fluktuationen auf den andern Körper übertragen. Bei den Chromosomen könnte man die Ursache der Veränderung darein verlegen, daß sie, nachdem sie vorher in einem geschlossenen Raum lagen, jetzt der Beeinflussung eines neuen Milieus (der Spindelsubstanz) ungeschützt ausgesetzt sind. Jedenfalls muß wohl die Umstimmung mit stofflichen Veränderungen irgend einer Art zusammenhängen.

Ein Hauptanteil der Umstimmung dürfte zunächst in einer Veränderung der gegenseitigen Beeinflussungen der Spalthälften der Chromosomen bestehen. In einer anderen Arbeit (1912c) bin ich etwas auf diese komplizierte Abhängigkeit der Chromosomenhälften voneinander eingegangen. Nach der Entwicklungsgeschichte der Chromosomen zu urteilen, muß während der ganzen Prophase und in der Metaphase eine Anziehung zwischen den Hälften vorhanden sein, die jedoch nicht so stark ist, daß sie verschmelzen. In der Metakinese wird nun diese Anziehung der Chromosomenhälften plötzlich aufgehoben. Ja, man muß sogar annehmen, daß sie einer Repulsion Platz gemacht hat, denn sonst wäre es nicht zu verstehen, daß die Chromosomenhälften an verschiedene Pole gehen. Die Anziehungskraft oder die Beziehungen zwischen den Polen und den Chromosomen sind ja — wie erwähnt — allgemeiner Natur, und das kann man auch sehr schön bei abnormen Teilungen beobachten. In der Reduktionsteilung gewisser Bastarde, deren Eltern verschiedene Chromosomenzahlen haben (z. B. *Drosera, Oenothera*), tritt eine Paarung einer Anzahl Chromosomen ein, während ein Teil von ihnen ungepaart bleibt. In der späteren Anaphase werden diese ungepaarten Chromosomen, die zugleich ungespalten sind, nach Zufall auf die Tochterkerne verteilt, also in ganz derselben Weise wie eventuell vorhandene extranukleare Nukleolen. Mehrere Beispiele dieser Art ließen sich anführen. Bei doppelten bzw. gespaltenen Chromosomen, d. h. in den normalen typischen und heterotypischen Karyokinesen, kommt aber etwas hinzu, das die Verteilung der Hälften jedes Chromosoms auf verschiedene Pole bestimmt, und dieses kann wohl kaum etwas anderes sein, als eben die in der Metakinese entstandene Repulsion zwischen denselben. Der Zufall entscheidet offenbar darüber, welche von den beiden Hälften an einen bestimmten Pol geht, beide können aber wegen der gegenseitigen Repulsion nicht nach einem Pole gehen. Vorläufig scheint mir diese Erklärungsweise die annehmbarste zu sein.

Auch über die Natur der attrahierenden bzw. abstoßenden Kräfte zwischen den Chromosomenhälften sind wir derzeitig wenig unterrichtet.

Die Versuche Erreras, Rouxs, Penntimallis, Conklins haben keine bestimmten Aufschlüsse darüber geben können, ob sie von elektrischer Natur sind. Von vornherein wäre ja dies nicht unwahrscheinlich; man weiß ja, daß in Kolloiden bei Entmischungsvorgängen usw. die verschiedenen Phasen entgegengesetzte Ladungen annehmen können. Aber die Bewegungen der Chromosomen ließen sich auch bei der Annahme von Chemotaxis, d. h. einseitigen Veränderungen der Grenzflächenspannung zwischen Karyotin und Spindelsubstanz, denken. Hierüber können nur eingehende experimentelle Untersuchungen entscheiden. Wir müssen uns aber gegen Erklärungsversuche der Teilungsvorgänge reserviert verhalten, die nur auf einfache Simulacra bauen. Bekanntlich gibt es mehrere dergleichen Versuche, um mit Hilfe der elektrischen, kapillaren oder hydrodynamischen Erscheinungen die Zellteilung zu erklären, man hat aber dabei gar nicht auf die verwickelten morphologischen und physiologischen Verhältnisse Rücksicht genommen oder experimentelle Untersuchungen an den Zellen gemacht.

Die Auflösung der Kernmembran dürfte dadurch zustandekommen, daß in der Plasmaschicht, die den Kern umgibt, Veränderungen stattfinden, die die Grenzflächenspannung zwischen dem Kernsaft und dieser Plasmaschicht aufheben. Selbstverständlich sind hierbei auch chemische Prozesse beteiligt, die die materielle Grenzschicht entfernen. Maßgebend für das Verschwinden der Membran dürfte der Umstand sein, daß die erwähnte Plasmaschicht und der Kernsaft arm an fällbaren Körpern und ziemlich gleichartig sind (vgl. Kap. 5, § 5, 7). Dies wird besonders auffällig bei Pflanzen, wo Polkappen oder eine „extranukleare Spindelanlage“ (bei der heterotypischen Teilung) ausgebildet werden. Bei Tieren und Pflanzen mit Zentrosomen haben diese anscheinend einen direkten Einfluß auf die Membranauflösung. Wir können uns hier — wo es sich nur um die Grundzüge handelt — nicht in die interessanten Details der karyokinetischen Vorgänge vertiefen.

Hinsichtlich der Bildung der Tochterkerne sei erwähnt, daß hierbei eine autolytische Auflösung des Karyotins mitzuspielen scheint. Es ist ja eine allgemeine Erscheinung, daß Chromosomen, die zufällig in das Körnerplasma geraten, z. T. aufgelöst werden, sich mit einer kleinen Vakuole umgeben und so einen Zwergkern bilden. Die Chromosomen führen ihre metakinetischen Manipulationen und ihre darauf folgende Wanderung in der Spindelsubstanz aus, die sich nach dem in Kap. 5, § 7 Entwickelten wahrscheinlich ziemlich indifferent in bezug auf die Chromosomensubstanz verhält. Nachdem aber die Chromosomen in die dichten Polplasmen gelangt sind, beginnt eine rasche Auflösung derselben, und die Chromosomenhaufen umgeben

sich demgemäß bald mit einer von einer Membran begrenzten Vakuole, die osmotisch ausgespannt wird und den neuen Kern darstellt.

Bei den höheren Tieren scheint die Teilung des Zellenleibs nicht ganz so einfach wie bei den Amöben zu erfolgen. Wie wir S. 515 angedeutet haben, weisen gewisse Beobachtungen (z. B. von Boveri 1901) darauf hin, daß die Kerne, bzw. die Zentrosomen, einen besonderen Einfluß auf die Oberflächenspannung des Plasmas haben, so daß diese an den am weitesten von diesen Bildungen liegenden Teilen verändert wird. In der Telophase bildet sich daher im Äquator eine Ringfurche, die schließlich eine Zweiteilung der Zelle herbeiführt.

Während bei den mit Zentrosomen versehenen Tierzellen der Teilungsimpuls von diesen Bildungen ausgeht, verhalten sich die höheren Pflanzenzellen in etwas anderer Weise. Hier fällt der Entwicklungszyklus des Zentrosoms weg. Der Teilungsanstoß geht vom Protoplasma selbst aus. Es nimmt eine dizentrische Anordnung an, die dann in derselben Weise wie die Zentrosomen in den Entwicklungszyklus des Kerns eingreift. Wir haben nun den wahrscheinlichen Ursachen dieses anscheinend spontanen Symmetriewechsels im Plasma nachzuforschen.

Wir haben uns hier an die für die Symmetrie maßgebenden Faktoren zu halten, mit denen wir uns schon bei Besprechung der Amöbenteilung beschäftigt haben. Die Anordnung des Plasmas im Innern von embryonalen Zellen, d. h. seine Symmetrie, wird von mehreren Faktoren bestimmt. Fast alle von diesen werden aber unter den folgenden drei Fällen mit einbezogen. Maßgebend für die Symmetrie, d. h. die innere Anordnung des Plasmas in embryonalen Phanerogamenzellen, ist also vorwiegend:

1. Die Stärke der Beziehungen zwischen Plasma und Kern; die Anzahl der Kerne. Plasma und Kern ziehen einander an (vgl. S. 514). Dies ist der Grund der Beeinflussung der Symmetrie. Was die Zahl der Kerne anbetrifft, so ist sie in den uns interessierenden Fällen immer nur eins (vor der Kernteilung) oder zwei (vor der Zellteilung).

2. Die Gestalt der Zelle. (Vgl. S. 515, 517.) In langgestreckten Zellen mit nur einem mittelständigen Kern will sich das Plasma vorwiegend an zwei entgegengesetzten Seiten des Kerns anlagern und zwar so, daß die Verbindungslinie der Anhäufungen in der Längsrichtung liegt. Der Grund dieser Beeinflussung folgt aus 1 und 3 zusammen.

3. Die Beschaffenheit der Umgebung der Zelle (Grad und Art der Anisotropie des Mediums). Dies hängt von dem Stoffaustausch zwischen der Zelle und dem Außenmedium ab. Besonders wenn die Zelle in einem Gewebeverband liegt (z. B. in einer Wurzelspitze)

wird selten die Umgebung ganz isotrop sein. Man denke an die Richtung der Nährstoffleitung, Wasserleitung usw. Der Einfluß der Umgebung ist natürlich sehr kompliziert, indem gewisse Stoffe das Plasma anziehen, andere es abstoßen (daß überhaupt chemotaktische oder osmotaktische Beziehungen zwischen dem Medium und dem eingeschlossenen Plasma herrschen müssen, bedarf wohl keiner näheren Erläuterung).

Alle diese Fälle sind also maßgebend für die Anordnung des Plasmas. Aber außerdem kommen natürlich innere Eigenschaften des Plasmas selbst hinzu: seine Kohäsion, Beweglichkeit, die Intensität des Stoffwechsels usw., d. h. lauter Eigenschaften, die seitens der inneren Organisation verändert und gelenkt werden. Wir haben uns daher zu denken, daß bei den zyklischen Veränderungen im Stoffwechsel, die mit dem Teilungszyklus verbunden sind (S. 518) und die denselben dirigieren, diese inneren Verhältnisse so gelenkt werden, daß erst zu einem gewissen Zeitpunkt die oben erwähnten Momente (1—3) einen entscheidenden Einfluß ausüben. Wie Beobachtungen lehren (Kap. 5, § 2), wird im allgemeinen die dizentrische Anordnung, d. h. die Bildung der Polplasmen, erst in der Prophase des Kerns bemerkbar, und vorher hat gewöhnlich eine radiäre Ansammlung um den Kern stattgefunden: dies deutet auf die erwähnte Lenkung der inneren Eigenschaften des Plasmas hin.

Bei der Bildung der Polplasmen dürfte also eine ganze Reihe von Faktoren in Tätigkeit sein. Es frägt sich nun: Warum bilden sich nur zwei Polplasmen? Dies dürfte einerseits damit zusammenhängen, daß es bei einer Anisotropie des Mediums, einer von der Kugelform abweichenden Gestalt der Zelle, kurz bei allen für die Symmetrie maßgebenden Faktoren, immer zwei ziemlich entgegengesetzte Richtungen gibt, in denen die Anisotropie am stärksten ist. Ferner wirken die inneren Eigenschaften des Plasmas, z. B. die Kohäsion, die allseitige Anziehung eines einzigen Kerns, teilweise entgegen den erwähnten richtenden Verhältnissen: Die Anordnung des Plasmas spiegelt mit anderen Worten die Anisotropie dieser Bedingungen gar nicht genau wieder; nur Hauptrichtungen machen sich bemerkbar, d. h. eben die zwei entgegengesetzten Resultanten.

Mit den soeben erwähnten Verhältnissen, in Verbindung mit den individuellen Verschiedenheiten der Zellen, hängt es zusammen, daß die Polplasmen sehr verschieden stark entwickelt sein können, wie dies aus unseren Erörterungen in Kap. 5 hervorgeht. Es leuchtet ein, daß sogar in völlig isodiametrischen oder sphärischen Zellen bei völliger Isotropie des Mediums (wenn ein solcher Grenzfall jemals realisiert würde) dennoch Polplasmen entstehen könnten. Denn die zyklischen Veränderungen im Innern verursachen früher oder später

eine gewisse Labilität des Plasmas, so daß es schließlich nicht in einer durchaus radiären oder monozentrischen Anordnung zusammengehalten werden kann, ebenso wie ein wachsender Tropfen schließlich zerfällt. Bei der Bildung der Polplasmen, diese mögen morphologisch noch so unscheinbar sein (vgl. Kap. 5, § 2), finden selbstverständlich in größerem oder geringerem Grade Entmischungen und dergleichen statt. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die Polplasmen elektrische Ladungen annehmen, was natürlich eine dizentrische Anordnung befördern müßte. Wir begnügen uns aber mit den bisherigen Ausführungen, die nur den Zweck haben, die Möglichkeit einer kausalen Erhellung des Auftretens einer scheinbar spontanen dizentrischen Anordnung im Plasma, bzw. in der nächsten Umgebung des Kerns, anzudeuten.

Wenn die Polplasmen einmal entstanden sind, ist der Anstoß zur Zellteilung gegeben. Die Funktion derselben in der Metaphase und Anaphase ist ganz dieselbe wie die der Zentrosomen (vgl. oben). Und in Kap. 5, § 3 haben wir beschrieben, wie sodann der Phragmoplast entsteht, der die Bipolarität durch die ganze Zelle verbreitet und die Anlage der Zellwand erleichtert. Daß die wenig umschriebenen Polplasmen genau so wie die körperlichen und sogar unter Umständen autonomen Zentrosomen im Hinblick auf die Chromosomenwanderung funktionieren, ist ein neues Argument für die schon vorher mehrmals erwähnte A l l g e m e i n h e i t der hier in Betracht kommenden Kräfte oder stofflichen Beziehungen.

Die Entstehung und die Rolle der Spindel haben wir schon in Kap. 5 ausführlich geschildert, weshalb wir uns hier nicht näher mit dieser Sache zu beschäftigen brauchen. Dagegen geben unsere obigen Erörterungen eine Veranlassung, eine andere wichtige Frage zu besprechen. Welche Faktoren bestimmen die Richtung der Teilungsachse?

Die Teilungsachse steht senkrecht auf der Scheidewand und wird in den überaus meisten Fällen schon durch die Lage der Polplasmen bestimmt. Die anderen Fälle, in denen eine nachträgliche Drehung der Teilungsfigur stattfindet, sind nicht schwerer verständlich wie jene. Was die Pflanzen anbetrifft, so ist unsere Frage schon durch die oben angeführten drei Punkte, die die Determination der inneren Symmetrieverhältnisse betreffen, beantwortet. Ein Faktor ist die Form der Zelle: Daher pflegen langgestreckte Zellen quergeteilt zu werden. Ein anderer Faktor ist die Anisotropie des Mediums: Daher können auch langgestreckte Zellen unter Umständen längsgeteilt werden (z. B. Kambiumzellen, die zwischen Holz- und Siebteil, bzw. Mark und Rinde liegen). Die Kausalität läßt sich also hier durchschauen.

Bei den mit Zentrosomen versehenen Tierzellen muß die Richtung

der Teilungsachse durch prinzipiell ähnliche Verhältnisse bestimmt werden. Die bekannten „Regeln" (O. Hertwig, Roux) sind ja auch in beiden Fällen dieselben. Hier dürften es die Zentrosomen sein, die einerseits durch die Anordnung des Plasmas, andererseits durch die Umgebung beeinflußt werden. Selbstverständlich muß auch die spezielle Beschaffenheit des Plasmas auf die Stellung der Zentrosomen und die Verteilung des „aktiven Plasmas", insofern örtliche Beziehungen herrschen, einwirken. In tierischen Eiern ist ja das Plasma sehr heterogen. Außerdem wird unter den Ursachen der Anisotropie der Umgebung auch Schwerkraft und Licht mit einbegriffen.

Zum Schluß wollen wir noch einem Punkt, der im Zusammenhang mit unserem theoretischen Exposé der Teilungsphänomene steht, aber zugleich eine Art Übergang zu der „entwicklungsgeschichtlichen" Betrachtung der Erscheinungen bildet, einige Worte widmen.

Die Verschiedenheiten der Teilungsmechanik der Metazoen- und der Metaphytenzelle. Die mit Hilfe von Zentrosomen vollführte Zellteilung ist anscheinend ein recht „stabiler" Vorgang, wenn ich so sagen darf. Die Tochterzentrosomen müssen infolge ihrer Eigenschaften auseinanderweichen und eine diametral entgegengesetzte Stellung annehmen, die außerdem selbstverständlich von mehreren Faktoren beeinflußt wird. Es ist aber wichtig, zu beachten, daß diese Stellung der Zentrosomen ziemlich unabhängig von der vorherrschenden Symmetrie im Plasma eingenommen wird. Die Teilung des Kerns kann daher immer vollzogen werden, und, wie wir wissen, veranlassen die Zentrosomen und die Tochterkerne dann eine dizentrische Anordnung und eine Teilung des Plasmas. Wir können die Zellteilung mit Zentrosomen in Beziehung zu der Beweglichkeit und Formveränderlichkeit der tierischen Zellen setzen. Bei solchen Zellen wäre es offenbar recht schwierig, ähnlich wie bei den Pflanzenzellen, an eine primär entstandene dizentrische Anordnung des Plasmas zu denken. Denn sie sind ja weich. Es würde die Gefahr nahe liegen, daß der Zellenleib zerteilt würde, ehe noch die Kernteilung vollzogen war.

Anders liegen die Verhältnisse in den Pflanzenzellen. Diese besitzen eine feste Hülle, die dem Plasma eine zuverlässige Stütze bietet. Daher kann das pflanzliche Plasma sehr wohl eine dizentrische Anordnung annehmen, ohne daß dadurch die Gestalt der Zelle und der innere Zusammenhang bedroht wird. Man weiß, wie z. B. bei *Zygnema* eine dizentrische Anordnung im Plasma normal vorkommt. Zentrosomen sind mit andern Worten bei den Pflanzen überflüssige Dinge, und sie verschwinden schon bei den Lebermoosen. Dagegen hat die Pflanzenzelle die Fähigkeit gewonnen, einen Phragmoplasten auszubilden, um die Zellteilung ungeachtet der bei dem Verzicht auf

die Zentrosomen unvermeidlich geschwächten dizentrischen Anordnung in den Teilungsstadien sicher zu Ende zu führen.

Diese kurze Betrachtung soll nur dazu dienen, zu zeigen, daß sich unsere Betrachtungsweise, unsere „Grundzüge einer Theorie der Teilungsphänomene“ auf phylogenetische Probleme und auf die Verhältnisse bei den niederen Organismen übertragen lassen. Dies zu tun ist aber nicht unsere Aufgabe in dieser Arbeit.

§ 3. Schlußbemerkungen.

Der Leser, der sich mit dem Inhalt des vorhergehenden Paragraphen bekannt gemacht hat, wird vielleicht finden, daß wir damit einiges zur Aufhellung unseres Problems haben beitragen können, er muß aber auch zugleich empfunden haben, wie außerordentlich viele Fragen noch ihrer Lösung harren. Wie wir schon vorher betont haben, bezwecken es unsere „Grundzüge“ nur, die vorhandenen Tatsachen unter Benutzung allgemein physiologischer Kenntnisse und Gesichtspunkte zu einem Bild zu verbinden, das wir als Grundlage für künftige, namentlich experimentelle Untersuchungen benutzen können. Unsere Theorie ist daher kein abgeschlossenes Ganzes, vielmehr nur ein Gerüst von Tatsachen und Wahrscheinlichkeiten, das in den Einzelheiten verändert und ergänzt werden wird.

Bei der kurzen Darlegung unserer Anschauungen über die Teilungsmechanik sind wir gar nicht auf eine Kritik schon verhandener „Theorien“ über denselben Gegenstand eingegangen. Ich finde dies auch durchaus unnötig, da diese Theorien entweder, wie die Zugfaser- oder Spannungstheorie, die Zelle wie ein starres und unmögliches, nach einfachen mechanischen Prinzipien funktionierendes Ding auffassen (Heidenhain hat sogar mechanische Modelle der Zellteilung, wie sie nach seiner Spannungstheorie verlaufen soll, erfunden), oder auch den bei der Zellteilung tätigen Organen und Strukturen Kräfte und Energien zuschreiben, über deren Vorkommen und Verbreitung in der Zelle gar nichts bekannt ist (alle auf Simulacra bauende Theorien, vgl. S. 525). Es handelt sich bei den Teilungsvorgängen um überaus mannigfaltige, aber durch den Stoffwechsel gelenkte und verknüpfte Erscheinungen, und die bedeutende Aufgabe ist die, den wahren Zusammenhang aller dieser wechselnden Erscheinungen zu erkennen, das Wesentliche der mannigfaltigen Verlagerungen und Strukturveränderungen aufzufinden, und dieses gelingt nicht mit einem Male, sondern erfordert eine unaufhörliche Zusammenarbeit von Morphologen und Physiologen. Durch vergleichende morphologische Untersuchungen und allgemeine Erwägungen sind wir aber so weit gekommen, daß wir wenigstens die Hauptmomente durchschauen, obwohl wir nicht die Triebkräfte im einzelnen angeben können. Und das, was dabei

unsere Aufmerksamkeit besonders auf sich lenkt, ist die große Bedeutung der im Plasma stattfindenden Veränderungen, die Verkettung der Karyokinese mit der Zytokinese. Eine andere sehr wichtige Sache ist die Periodizität der Teilungserscheinungen und das Zustandekommen derselben. Wir betrachteten es als wahrscheinlich, daß die zyklischen Stoffwechselveränderungen, die man als das essentielle Substrat der morphologischen Veränderungen zu betrachten hat, zuletzt von den allgemeinen Relationen zwischen Zellgröße und Außenwelt und innerer Beschaffenheit abhängig sind. Der ganze Prozeß der Zellteilung läßt sich mit andern Worten ohne Einführung von unbekannten Energiearten oder Kräften kausal denken. Und eben in der allgemeinen Erkenntnis des äußeren und inneren Zusammenhanges aller Erscheinungen, die etwas mit der Teilung zu tun haben, besitzen wir eine kräftige Handhabe bei künftigen experimentellen Untersuchungen.

Literaturverzeichnis.

Allen, Ch. E., 1903, The early stages of spindle-formation in the pollen-mother-cells of *Larix*. Annals of Botany. Bd. 17.

Andrews, P. M., 1902, Karyokinesis in *Magnolia and Liriodendron* usw. Beih. z. Bot. Zentralbl. Bd. 11.

Auerbach, L., 1876, Zelle und Zellkern. Cohns Beiträge zur Biol. d. Pflanzen. Bd. 2.

Balbiani, E. G., 1876, Sur les phénomènes de la division du noyau cellulaire. Comptes rendus de l'Acad. Paris. Bd. 58.

— 1881, Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les larves de *Chironomus*. Anat. Anzeiger. Bd. 8.

Baltzer, F., 1908, Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern. Verh. d. Phys.-med. Gesellsch. Würzburg.

— 1909, Die Chromosomen von *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus microtuberculatus*. Arch. f. Zellforsch. Bd. 2.

Baumgartner, 1904, Some new evidences for the individuality of chromosomes. Biol. Bull. Bd. 8.

Belajeff, W., 1894, Zur Kenntnis der Karyokinese in den Pflanzen. Flora. Bd. 79.

Beneden, E. van, 1883, Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. Archives de Biologie. Bd. 4.

— et Neyt, A., 1887, Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'Ascaride mégalocéphale. Bull. Acad. roy. Belg. Ser. 4. Bd. 14.

Berghs, J. H., 1905, La figure achromatique chez *Paris quadrifolia*. La Cellule. Bd. 21.

— 1906, Le noyau et la cinèse chez le *Spirogyra*. La Cellule. Bd. 23.

Bernard, A., 1900, Recherches sur les sphères attractives de *Lilium candidum* usw. Journal de Botanique. 18. Jahrg.

— A., 1905, 1906, Quelques remarques à propos des centres cinétiques. Journal de Botan. 19. Jahrg.

Berthold, G., 1886, Studien über Protoplasmamechanik. Leipzig.

Blackman, V. H., 1905, The spermatogenesis of the Myriapods. Bull. Mus. comp Zool. Harvard Coll. Bd. 48.

Borgert, A., 1910, Kern- und Zellteilung bei marinen *Ceratium*arten. Archiv f. Protistenkunde. Bd. 20.

Boveri, M., 1903, Über Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung. Jenaische Zeitschr. Bd. 37.

Boveri, Th., 1887, Zellenstudien. I. Heft. Jena.

— 1888, Zellenstudien. II. Heft. Jena.

— 1890, Zellenstudien. III. Heft. Jena.

— 1904, Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena.

— 1907, Zellenstudien. 6. Heft. Die Entwicklung dispermer Seeigeleier. Jena.

— 1909a, Die Blastomerenkerne von *Ascaris megalocephala* und die Theorie der Chromosomenindividualität. Archiv f. Zellforsch. Bd. 3.

— 1909b, Über Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Archiv f. Zellforsch. Bd. 4.

Bonnevie, Kristine, 1906, Untersuchungen über Keimzellen I. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 41.

— 1908, Chromosomenstudien I. Archiv f. Zellforsch. Bd. 1.

— 1910, Über die Rolle der Zentralspindel während der indirekten Zellteilung. Arch. f. Zellforsch. Bd. 5.

— 1911, Chromosomenstudien III. Archiv f. Zellforsch. Bd. 6.

Boring, Alice M., 1909, A small chromosome in *Ascaris megalocephala*. Archiv f. Zellforsch. Bd. 4.

Bütschli, O., 1875, Vorläufige Mitteilung einiger Resultate von Studien über die Conjugation der Infusorien und der Zellteilung. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 25.

Byxbee, 1900, The development of the karyokinetic spindle in the pollenmothercells of *Lavatera*. Proc. of the Calif. Acad. of Science. Bd. 2. Nr. 2.

Carnoy, 1885, La cytodiérèse des Arthropodes. La Cellule. Bd. 1.

Cavara, F., 1897, Intorno ad alcune strutture nucleari. Atti dell' Ist. bot. del Univ. di Pavia. N. S. Bd. 5.

— 1898, Esiste cromatolisi nei nuclei normali vegetali? Rend. della R. Acad. dei Linnei. Bd. 7. Sem. I. Ser. 5a. F. 10.

— 1899, Contribuzione alla cromatolisi nei nuclei vegetali. Ann. del R. Ist. di Roma. S. 89.

— 1902, Breve contribuzione alla connoscenza del nucleolo. Bull. della soc. Bot. Ital. S. 108.

Conklin, E. G., 1902, Karyokinesis and cytokinesis in the maturation, fertilization and cleavage of *Crepidula* usw. Journ. Philadelphia. Bd. 12.

Czermak, N., 1899, Über die Desintegration und die Reintegration des Kernkörperchens bei der Karyokinese. Anat. Anzeiger. Bd. 15.

Debski, Br., 1897, Beobachtungen über die Kernteilung bei *Chara fragilis*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 30.

Demoor, J., 1894, Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule. Archiv. d. Biol. Bd. 13.

Doflein, F., 1901, Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Jena.

Dublin, 1905, Zur Zytologie parthenogenetischer Larven von *Strongylocentrotus*. Archiv f. Entwickl.-Mech. Bd. 19.

Erhard, H., 1910, Über den Aufbau der Speicheldrüsenkerne der *Chironomus*-larve. Arch. mikr. Anat. Bl. 76.

Farmer, J. B., 1895, Über die Kernteilung in *Lilium*-Antheren, besonders in Bezug auf die Zentrosomenfrage. Flora 1895.

— and Shove, 1905, On the structure and development of the somatic and heterotypic chromosomes of *Tradescantia virginica*. Quat. Journ. Micr. Soc. Bd. 48.

Fick, R., 1899, Über die Eireifung bei Amphibien. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Tübingen. Anat. Anz. 16.

Fischer, A., 1899, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena.

Fitting, H., 1900, Bau und Entwicklungsgeschichte der Makrosporen von *Isoëtes* und *Selaginella* usw. Bot. Ztg. Bd. 58.

Flemming, W., 1877, Beobachtungen über die Beschaffenheit des Zellkerns. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 13.

— 1879, Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen I. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 16.

— 1880, Beiträge zur Kenntnis der Zelle II. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 19.

— 1881, Beiträge zur Kenntnis der Zelle III. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 20.

— 1882, Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig.

— 1887, Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle I. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 29.

— 1891, Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle II. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 37.

— 1895, Zur Mechanik der Zellteilung. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 46.

Fol, H., 1873, Die erste Entwicklung des Geryonideneies. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 7.

Foot and Strobell, 1907, A study of chromosomes in the spermatogenesis of *Anasa tristis*. Amer. Journ. Anat. Bd. 7.

Fulmer, Ed. L., 1898, Cell division in pine seedlings. Bot. Gaz. Bd. 26.

Gardner, Blanche, Studies on growth and cell division in the root of *Vicia Faba*. Contr. fr. the bot. lab. Pennsylvania. II.

Gates, R. R., 1909, The stature and chromosomes of *Oenothera gigas*. Arch. f. Zellforsch. Bd. 3.

Geerts, 1909, Beiträge zur Kenntnis der Zytologie und der partiellen Sterilität von *Oenothera Lamarckiana*. Rec. Trav. Bot. Néerl. Bd. 5.

Gehuchten, H. van, 1887, Recherches sur la structure et la division du noyau cellulaire. Ann. de scienc. nat. Bot. Sér. VI. Bd. 17.

Georgewitsch, P., 1908, Zur Nukleolusfrage. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 23.

Grégoire, V., 1899, Les cinèses polliniques chez les Liliacées. La Cellule. Bd. 16.

— 1906, La structure de l'élément chromosomique au repos et en division somatique dans les cellules végétales. La Cellule. Bd. 23.

— 1910, Les cinèses de maturation dans les deux règnes. La Cellule. Bd. 26.

Grégoire, V., et Wygaerts, 1903, La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes usw. La Cellule. Bd. 21.

— et Berghs, 1904, La figure achromatique dans le *Pellia epiphylla*. La Cellule. Bd. 21.

— et Deton, 1906, Contributions à l'étude de la spermiogénèse dans l'*Ophryotrocha puerilis*. La Cellule. Bd. 23.

Guignard, L., 1884, Recherches sur la structure et la division du noyau cellulaire. Ann. de sc. nat. Bot. Sér. VII. Bd. 14.

— 1885, Nouvelles recherches sur le noyau cellulaire. Ann. de sc. nat. Bot. Sér. VII. Bd. 15.

— 1891, Nouvelles études sur la fécondation. Ann. d. sc. nat. Bot. Sér. VII. Bd. 19.

— 1894, Sur l'origine des sphères directrices. Journ. de Botan.

— 1898, Les centres cinétiques chez les végétaux. Ann. de sc. nat. Bot. 8. sér. T. 5.

— 1899, Le développement du pollen et la réduction chromatique dans le *Naias major*. Arch. d'anat. microsc. Tom. II. fasc. IV.

Günther, 1903, Über den Nukleolus im reifenden Echinodermenei und seine Bedeutung. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Bd. 19.

— 1904, Keimfleck und Synapsis. Zool. Jahrb. Suppl. 7. Bd. 19.

Gurwitsch, A., 1909, Über Prämissen und anstoßgebende Faktoren der Furchung und Zellvermehrung. Arch. f. Zellforsch. Bd. 2.

Guttenberg, H. R. von, 1909, Zytologische Studien an *Synchytrium*-Gallen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 46.

Haecker, V., 1895, Die Vorstadien der Eireifung. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 45.

— 1899, Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Jena.

Heidenhain, M., 1907, Plasma und Zelle. Jena.

Herla, V., 1895, Etudes des variations de la mitose chez l'Ascaride mégalocéphale. Arch. de Biol. T. 13.

Hertwig, O. u. R., 1887, Untersuchungen zur Morphologie und Physiologie der Zelle. H. 5.

Hertwig, O., 1893, Allgemeine Biologie. Jena.

Heuser, E., 1884, Beobachtungen über Zellkernteilung. Bot. Zentralbl.

Hewitt, 1906, The cytological aspect of parthenogenesis in insects. Mem. Proc. Manchester lit. phil. Soc. Bd. 50.

Hof, A., 1898, Histologische Studien an Vegetationspunkten. Bot. Zentralbl. Bd. 76.

Hottes, Ch. E., 1901, Über den Einfluß von Druckwirkungen auf die Wurzel von *Vicia Faba*. Dissertation. Bonn.

Humphrey, 1894, Nukleolen und Chromosomen. Ber. d. d. Bot. Gesellsch. Bd. 12.

Ishikawa, M., 1911, Cytologische Studien von Dahlien. The bot. Magaz. Tokyo. Bd. 25.

Janssens et Dumez, 1903, L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation des spermatocytes chez *Batrachoseps attenuatus* etc. La Cellule. Bd. 20.

— et Erlington, 1904, L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation dans l'oeuf de *l'Aphysia punctata*. La Cellule. Bd. 21.

Janicki, 1903, Beziehungen zwischen Chromatin und Nukleolen während der Teilung des Eies von *Gyrodactylus elegans* von Nordm. Zool. Anzeiger Bd. 26.

Juel, O. H., 1897, Die Kernteilungen in den Pollenmutterzellen von *Hemerocallis fulva* usw. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 30.

— 1900, Beiträge zur Kenntnis der Tetradenteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 35.

Karpoff, 1904, La caryocinèse dans les sommets des racines chez *Vicia Faba*. Trav. de l'Inst. Agron. de Moscou.

Klein, E., 1878, Observations on the structure of cells and nuclei. Quat. Journ. of micr. Soc. Bd. 18. N. S.

Koernicke, M., 1903, Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Bd. 21.

— 1906, Zentrosomen bei Angiospermen? Flora. Bd. 96.

Korschelt, E., 1890, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Bd. 4.

— 1895, Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei *Ophryotrocha puerilis*. Zeitschr. f. wiss. Zoolog. Bd. 60.

Kostanecki, 1897, Über die Bedeutung der Polstrahlung während der Mitose und ihr Verhältnis zur Teilung des Zellleibes. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 49.

Kowalski, 1904, La reconstitution du noyau et les chromosomes chez *Salamandra maculosa*. La Cellule. Bd. 21.

Kuwada, Y., 1911, Maiosis in the Pollen Mother-Cells of *Zea Mays L.* The botan. Magazine Tokyo. Bd. 25.

Laibach, F., 1907, Zur Frage der Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 22.

Lauterborn, R., 1896, Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig.

Lawdovski, M., 1894, Von der Entstehung der chromatischen und achromatischen Substanzen in den tierischen und pflanzlichen Zellen. Merkel und Bonnets Anat. Hefte 14.

Lawson, A. A., 1900, Origin of the cones of the multipolar spindle in *Gladiolus*. Bot. Gazette. Bd. 30.

— 1903a, On the relationship of the nuclear membran to the protoplast. Bot. Gazette. Bd. 35.

— 1903b, Studies in spindle formation. Bot. Gazette. Bd. 36.

— 1898, Some observations on the development of the karyokinetic spindle in pollen-mother-cells of *Cobea scandens*. Proc. Cal. Acad. Sc. III.

Lerat, 1905, Les phénomènes de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse de *Cyclops strenuus*. La Cellule. Bd. 22.

Lidforss, B., 1908, Über kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Zellkern und Chromatophoren. Lunds. Univ. Årsskrift. N. F. Bd. 4, Nr. 2.

Longo, B., Contribuzione alla cromatolisi (pimosi) nei nuclei vegetali. Ann. del. R. Ist. Bot. di Roma. 1899.

Lundegårdh, H., 1910a, Über Kernteilung in den Wurzelspitzen von *Allium Cepa* und *Vicia Faba*. Svensk bot. Tidskrift. Bd. 4, H. 3.

— 1910b, Ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen. Über Protoplasmastrukturen in den Wurzelmeristemzellen von *Vicia Faba*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 48.

— 1912a, Fixierung, Färbung und Nomenklatur der Kernstrukturen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 80, I.

— 1912b, Über die Kernteilung bei höheren Organismen nach Untersuchungen an lebendem Material. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 51.
— 1912c, Das Karyotin im Ruhekern und sein Verhalten bei der Bildung und Auflösung der Chromosomen. Archiv f. Zellforsch. Bd. IX, H. 2.

Mano, M., 1904, Nucléole et chromosomes. La Cellule. Bd. 22.

Mc Cleudon, J. F., 1910, On the effect of centrifugal force on the frog's egg. Archiv. f. Zellforsch. Bd. 5.

Mc Clung, 1902, The spermatocyte division of the Locustidae. Kansas Univ. Bull. Bd. 1.

Merriman, Mabel, 1904, Vegetative cell division in *Allium*. Bot. Gaz. Bd. 37.

Miyake, K., 1905, Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 42.

Montgomery, Th., Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the nucleolus. Journ. of Morphol. Bd. 15.
— Thos. H., 1901, A study of the germ cells of metazoa. Trans. Amer. phil. Soc. Bd. 20.
— 1904, Some observations and considerations upon the maturation phenomene of the germ cells. Biol. Bull. Bd. 6.
— 1906, Chromosomes in the spermatogenesis of Hemiptera Heteroptera. Trans. amer. phil. Soc. (N. S.) Bd. 21.
— 1910, On the dimegalous sperm and chromosomal variation of *Euschistus*, with reference to chromosomal continuity. Archiv f. Zellforsch. Bd. 5.

Moenkhaus, 1904, The development of hybrids between *Fundulus heteroclitus* and *Menidia notata* etc. Amer. Journ. of Anat. Bd. 3.

Moore and Arnold, 1906, On the existence of permanent forms of chromosomes of the first maiotic division in certain animals. Proc. Roy. Soc. B. Bd. 77.

Mottier, D. M., 1897, Beiträge zur Kenntnis der Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen und Monokotylen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 30.
— 1898, Über das Verhalten des Kerns bei der Entwicklung des Embryosackes usw. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 31.

Müller, Cl., 1909, Über karyokinetische Bilder in den Wurzelspitzen von *Yucca*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 47.
— 1912, Kernstudien an Pflanzen. I. u. II. Archiv f. Zellforsch. Bd. 8.

Němec, B., 1898, Über Zellkern und Zellteilung bei *Solanum tuberosum*. Flora. Bd. 86.
— 1899a, Zur Physiologie der Kern- und Zellteilung. Bot. Zentralbl. Bd. 77.
— 1899b, Über die karyokinetische Kernteilung in der Wurzelspitze von *Allium Cepa*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 33.
— 1900, Neue zytologische Untersuchungen. Beitr. zur wiss. Bot. Bd. 4.
— 1901, Über zentrosomenähnliche Gebilde in vegetativen Zellen der Gefäßpflanzen. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Bd. 19.
— 1910, Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin.

Osterhout, W. J. W., 1897, Über die Entstehung der karyokinetischen Spindel bei *Equisetum*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 30.
— 1902, Cell studies I. Spindle formation in *Agave*. Proc. Cal. Acad. III. Bd. 2.

Pfitzner, W., 1883, Beiträge zur Lehre vom Bau des Zellkerns und seinen Teilungserscheinungen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 23.

Rabl, C., 1885, Über Zellteilung. Gegenbauer, Morph. Jahrb. Bd. 10.
— 1889, Über Zellteilung. Anat. Anzeiger. Bd. 4.
— 1906, Über organbildende Substanzen. Jena.

Reinke, Fr., 1894, Zellstudien. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 43.

Retzius, G., 1881 a, Studien über die Zellenteilung. Biologische Untersuchungen. Jahrg. 1.
— 1881b, Zur Kenntnis vom Bau des Zellkerns. Biol. Unters. Jahrg. 1.

Rosen, F., 1895, Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzellen, III. Kerne und Kernkörperchen in meristematischen Geweben. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 7.

Rosenberg, O., 1905, Zur Kenntnis der Reduktionsteilung in Pflanzen. Botan. Notiser.
— 1908, Zytologische und morphologische Studien an *Drosera longifolia* × *rotundifolia*. Kgl. Sv. Vet.-Akad. Handlinger. Bd. 43. Nr. 12.
— 1909 a, Über den Bau des Ruhekerns. Sv. bot. Tidskr. Bd. 3.
— 1909 b, Zur Kenntnis von den Tetradenteilungen der Compositen. Svensk botan. Tidskr. Bd. 3.

Roux, W., 1905, Die Entwicklungsmechanik. Leipzig.

Samassa, Über die Einwirkung von Gasen auf die Protoplasmaströmung und Zellteilung von *Tradescantia*. Verh. d. Nat.-Med. Ver. Heberg. N. F. Bd. 4.

Sargent, E., 1896, 1897, The formation of the sexual nuclei in *Lilium Martagon* I. u. II. Annals of Botany. Bd. 10 u. 11.

Schaffner, J. H., 1898, Karyokinesis in root-tips of *Allium*. Bot. Gazette, Bd. 26.
— 1901, A contribution to the life-history and cytology of *Erythronium*. Bot. Gaz. Bd. 31.

Schottländer, 1894, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen bei Kryptogamen. Cohns Beitr. zur Biol. d. Pflanzen. Bd. 6.

Schrammen, Fr. R., 1902, Über die Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationspunktes und des Sprosses von *Vicia Faba*. Verh. d. nat. Ver. d. preuß. Rheinl. Jahrg. 59.

Schreiner, A., und K. E., Die Reifungsteilungen bei den Wirbeltieren. Anat. Anzeiger. Bd. 24.

Sipkens, B., 1904, Die Kernteilung bei *Fritillaria imperialis*. Rec. d. trav. bot. Néerl.

Smith, R. W., 1900, The achromatic spindle in the spore-mother-cells of *Osmunda regalis*. Bot. Gazette. Bd. 30.

Stevens, 1904, Further studies on the ovogenesis of *Sagitta*. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 21.

Stoms, Th. J., 1910, Kerndeping en Synapsis biy *Spinacia oleracea*. L. Dissertation. Amsterdam.

Strasburger, E., 1880, Zellbildung und Zellteilung. III. Aufl. Jena.
— 1882 a, Über den Teilungsvorgang der Zellkerne. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 21.
— 1882 b, Die Bildung der Zellhäute. Jena.
— 1884, Die Kontroversen der indirekten Zellteilung. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 23.
— 1888, Über Kern- und Zellteilung im Pflanzenreich. Jena.
— 1895, Karyokinetische Probleme. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 28.
— 1897, Über Cytoplasmastrukturen, Kern- und Zellteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 30.

Strasburger, E., 1900, Über Reduktionsteilung, Spindelbildung usw. Jena.
— 1905, Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 42.
— 1907a, Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybridenfrage. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 44.
— 1907b, Apogamie bei *Marsilea*. Flora. Bd. 97.
— 1908, Über Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen usw. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 45.
— 1909, Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts usw. Jena.

Sutton, 1902, On the morphology of the chromosome group in *Brachystola magna*. Biol. Bull. Bd. 4.

Sykes, M. G., 1908, Nuclear division in *Funkia*. Archiv f. Zellforsch. Bd. 1.

Tangl, 1888, Die Kern- und Zellteilung bei der Bildung des Pollens von *Hemerocallis fulva*. Denkschr. d. math.-nat. Kl. d. Akad. d. Wiss. Wien Bd. 45. Abt. 2.

Tischler, G., 1906, Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei *Ribes*-Hybriden. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 42.

Treub, M., 1878, Quelques recherches sur le rôle du noyau dans la division des cellules végétales. Natuurk. Verh. d. koninkl. Akad. Deel. 19.

Tretjakoff, 1904, Die Bildung der Richtungskörperchen in den Eiern von *Ascaris megalocephala*. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 65.

della Valle, P., 1909, L'organizazione della cromatina studiata mediante il numero dei cromosomi. Archivio zoologico. Bd. 4.

Vejdovsky und Mrazek, 1903, Umbildung des Zytoplasmas während der Befruchtung und Zellteilung nach Untersuchungen an dem *Rhynchelmis*-Ei. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 32.

Wager, H., 1904, The nucleolus and nuclear division in the root-apex of *Phaseolus*. Annals of Botany. Bd. 18.

Went, F., 1887, Beobachtungen über Kern- und Zellteilung. Ber. d. d. bot. Gesellsch.

Wilson, E. B., 1900, The cell in development and inheritance. New York.
— 1902, Studies of chromosomes III. Journ. experim. Zool. Bd. 3.
— 1909, Studies of chromosomes V. Journ. exper. Zool. Bd. 6.

Wisselingh, C. van, 1899, Das Kerngerüst. Bot. Ztg., I.

Yamanouchi, Sh., 1901, Einige Beobachtungen über die Zentrosomen in den Pollenmutterzellen von *Lilium longiferum*. Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. 10.

Zacharias, E., 1885, Der Nukleolus. Bot. Zeitung.
— 1891, Über das Wachstum der Zellhaut der Wurzelhaare. Flora. Bd. 74.
— 1895, Über das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. Flora. Bd. 81.
— 1902, Über die achromatischen Bestandteile des Zellkerns. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Bd. 20.
— 1909, Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progr. rei botan. Bd. 2.

Zimmermann, A., 1893, Über das Verhalten der Nukleolen während der Karyokinese. Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenzelle. Tübingen. Bd. 2, H. 1.
— 1896, Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. Jena.

Zweiger, 1906, Die Spermatogenese von *Forficula auricularia* L. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch. Bd. 42.

Erklärung der Tafelabbildungen.

Sämtliche Figuren sind unter Benutzung einer Camera lucida gezeichnet. Die Vergrößerung ist bei allen nicht ganz gleich. Durchschnittlich beträgt sie jedoch 3000. Ich habe eine Leitz $^1/_{16}$ hom. Immersion (Fluoritsystem) und Komp. Okular 18 benutzt. Für das Studium der Details wurden natürlich schwächere Okularvergrößerungen gewählt.

Tafel XI.

Alle Figuren sind von *Allium Cepa.* Fig. 1, 3, 4, 6—9, 11, 12 nach Flemming-, 2, 5, 10 nach Merkelpräparaten. Fig. 1, 2, 5—7, 11 nach Hämaoxylin-, die übrigen nach S.-G.-O.-Färbung. Schnittdicke überall 5 μ, außer in Fig. 2 (14 μ).

Fig. 1. Spiremstadium. Die Schlingen sind z. T. artifiziell verklebt.

Fig. 2. Ganzer Kern mit 16 nicht orientierten und doppelt gebauten Chromosomenschlingen.

Fig. 3. Stadium des „dichten Knäuels" nach der Membranauflösung. Der Knäuel liegt in einer ellipsoidischen, den Polkappen entstammenden Spindelsubstanzbildung. Spindelfäden und Polplasmen.

Fig. 4. Stadium der Membranauflösung. Verschwommene Längsspaltung in den Chromosomen. Keine Polkappen. Spindelfäden. Polplasmen.

Fig. 5. Stadium kurz nach der Auflösung der Kernmembran und vor der Äquatorialplattenbildung. Die Chromosomenschlingen zeigen noch die Rablsche Orientierung, der Knäuel wird aber eben zugeplattet, so daß sie z. T. in Geradestreckung begriffen sind. Die Projektion des Haufens ähnelt daher der Äquatorialplatte (vgl. Textfig. 3); der Haufen wird in der Verbindungsrichtung der Polplasmen gesehen.

Fig. 6. Ein ähnliches Stadium wie in Fig. 3. Die Spindelsubstanz ist nicht so scharf umschrieben wie hier. Polplasma mit Körnchen, von denen Spindelfäden ausgehen. Die Struktur des Plasmas sowie Chromosomen sind möglichst genau wiedergegeben.

Fig. 7. Ein gleiches Stadium. Die Spindelsubstanz sehr schön geformt, mit deutlicher Begrenzung. Spärliche längs verlaufende Fäden, die an die Chromosomen und an Körnchen oder Vorsprünge der Polplasmen ansetzen. Die Chromosomen deutlich gespalten und mit rauher Oberfläche.

Fig. 8. Ein gleiches Stadium mit sehr deutlichen Polplasmen. Die Längsspaltung der Chromosomen verschwommen. Nukleolus noch vorhanden. Sowohl Fig. 7 wie Fig. 8 wurden, wie die übrigen, namentlich betreffs des Plasmas, sehr genau verfertigt.

Fig. 9. Chromosomenhaufen, im Begriff, die Äquatorialplatte zu bilden. Polplasmen. Keine Fasern und undeutliche Spindelsubstanz.

Fig. 10. Schnitt durch eine Äquatoriaplatte mit sehr weit voneinander liegenden Spalthälften und artifizieller Kleinstruktur der Chromosomen.

Fig. 11. Metakinese. Sehr wenige Spindelfasern. Diffuse Begrenzung der Spindelsubstanz.

Fig. 12. Äquatorialplatte. Längsspaltung der Chromosomen verwischt. Dieselben sind mit einer Hülle von einzelnen Körnchen versehen. An einigen dieser Körnchen setzen Fasern oder Faserbündel an. Auch an einem Körnchen im Plasma sieht man ein Faserbündel. Die Chromosomen liegen in sackförmigen Erweiterungen der Spindelsubstanz.

Tafel XII.

Fig. 13—16 von *Allium Cepa*, Fig. 17—29 von *Vicia Faba*. Fig. 13—19 nach Flemming-, 20, 22 nach Merkel-, 21, 29 nach Hermann-, 23—25 nach Kaiser-, 26—28 nach Tellyesniczky-Fixierung. Fig. 13, 14, 15, 16, 20, 22 nach S.-G.-(O.)-Präparaten, die übrigen nach Hämatoxylinfärbung. Schnittdicke 5 μ, außer in Fig. 26—28, wo sie 14 μ beträgt.

Fig. 13. Äquatorialplatte in Seitenansicht. Spindelfigur mit stumpfen Enden. Teilweise gebogene Spindelfasern. Polplasmen. In dieser wie in den folgenden Fig. 14, 15 ist auch das Plasma sehr genau wiedergegeben.

Fig. 14. Anaphase. Die auseinanderweichenden Tochterchromosomen sind in verschiedener Weise gebogen und orientiert. Eine recht schöne Spindelfigur aus spärlichen, grobkörnigen Fäden, die meistens unabhängig von den Chromosomen verlaufen. Die Oberfläche der letzteren ist rauh oder wellig.

Fig. 15. Etwas spätere Anaphase. Die Chromosomen bilden zwei Haufen an den Polen und sind hier übereinstimmend orientiert. Zwischen ihnen sieht man gebogene grobkörnige Fäden. Das Plasma ist deutlich körnig. Auch zwischen den Chromosomenhaufen liegt körniges Plasma.

Fig. 16. Telophase. Unregelmäßig nierenförmige Gestalt der Kerne. Vakuolisation und Anastomosieren der Chromosomen. An einzelnen Stellen Längsspaltung derselben. Membranbildung mit sehr undeutlichem „Phragmoplasten".

Fig. 17. Spiremstadium von *Vicia*. Die Chromosomen recht alteriert (vakuolige Scheiben). Künstliche Verklebungen zwischen denselben und Nukleolus.

Fig. 18. Spiremstadium.

Fig. 19. Drei Spiremschlingen aus einer zwischen zwei Glasplatten gewachsenen Wurzel. Die Spalthälften liegen sehr weit auseinander.

Fig. 20. Spiremstadium. Die Chromosomenhälften sind sehr dünn, körnig und umeinander gedreht.

Fig. 21. Spätes Spiremstadium. Teilweise Endverklebung der Chromosomen.

Fig. 22. Spiremstadium (Pleromkern) mit sehr dünnen Chromosomen.

Fig. 23. Fertiges Spirem, recht sehr alteriert.

Fig. 24. Noch mehr alteriertes Spirem aus demselben Präparat wie 23.

Fig. 25. Jüngeres Spirem aus demselben Präparat wie 23 und 24 Verklebung zwischen Spiremfäden und Nukleolus.

Fig. 26. Ganzer Spiremkern mit 12—15 Chromosomenschlingen. Keine Orientierung derselben. Teilweise Endverklebung und Verschmelzung mit dem Nukleolus. Deutliche Längsspaltung.

Fig. 27. Ganzer Spiremkern mit 12—15 Chromosomenschlingen. Sie zeigen z. T. die Rablsche Orientierung.

Fig. 28. Spiremkern mit etwa 12 Chromosomen. Keine Endverklebung derselben. Keine Orientierung. Polkappen in verschiedener Ausbildung.

Fig. 29. Spiremstadium mit orientierten Chromosomen. Quersegmentierung eines von ihnen. Polkappe.

Tafel XIII.

Alle Figuren sind von *Vicia Faba*. Fig. 30, 38, 41 nach Merkel-, 30a, 40 nach Tellyesniczky-, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 39, 42 nach Flemming-, 33 nach Hermannfixierung. Fig. 33, 34, 35, 36, 38, 41 nach S.-G.-(O.)-Präparaten. Fig. 31, 32, 42 nach einem Safraninpräparat. Fig. 30a, 33, 34, 37, 40 nach Hämatoxylinfärbung. Schnittdicke 5 μ, außer in Fig. 40, wo sie 14 μ beträgt.

Fig. 30. Spiremstadium mit z. T. verschwommener Längsspaltung der Spiremschlingen.

Fig. 31. Knäuelstadium nach Auflösung der Membran. Nach einem alten Präparat. Sehr deutliche Längsspaltung und Kleinstruktur der Chromosomen.

Fig. 32. Ein ähnliches Stadium aus demselben Präparat.

Fig. 33. Spindelförmiger Spiremkern (ohne Polkappen). Endverklebte Chromosomen, in denen die Längsspaltung unsichtbar ist.

Fig. 34. Spiremstadium mit Polkappen und nichtorientierten Chromosomenschlingen. Querspaltung derselben (?).

Fig. 35. Knäuelstadium nach der Membranauflösung. Spindelsubstanz mit Fäden und dichter Außenbegrenzung. Polplasma mit Einschlußkörpern.

Fig. 36. Stadium der Membranauflösung. Unten sieht man die vorherige Polkappe. Spindelfäden.

Fig. 37. Etwas späteres Stadium mit wahrscheinlich abnorm verlagerten und z. T. alterierten Chromosomen. Spärliche Fäden. Teilweise Membranbegrenzung der Spindelsubstanz.

Fig. 38. Metaphase. Keine Spindelfasern. Verwischte Längsspaltung. Extranukleare Nukleolen. Zerrissenes Plasma.

Fig. 39. Chromosomenhaufen kurz nach der Membranauflösung mit größtenteils längsgestreckten Schlingen. Extranuklearer Nukleolus.

Fig. 40. Chromosomenknäuel vor der Äquatorialplattenbildung. 12 Chromosomen, die z. T. kettenartig zusammenhängen. Die Projektion des Knäuels weist die Konfiguration einer Äquatorialplatte auf.

Fig. 41. Schnitt durch eine Äquatorialplatte, von oben gesehen. Extranukleare Nukleolen.

Fig. 42. Metaphase-Chromosomen, die kettenartig zusammenhängen, aus demselben alten Präparat wie 31, 32. Falsche Kleinstruktur der Chromosomenhälften.

Tafel XIV.

Fig. 43—57 von *Vicia Faba*. Fig. 58, 59 von *Cucurbita Pepo*. Fig. 43, 44, 46, 48, 49, 52—59 nach Flemmingfixierung; Fig. 45 nach Merkel-, 47, 50, 51 nach Tellyesniczkyfixierung. Fig. 43, 44, 46—51, 53, 54, 56, 58, 59 nach Hämatoxylinpräparaten. Fig. 45, 52, 57 nach S.-G.-O.-Färbung; Fig. 55 nach einem alten Safraninpräparat. Schnittdicke in allen Fällen 5 μ.

Fig. 43. Metaphase. Zwei der doppelt gebauten Chromosomen in der Mitte der Figur haben kleine Segmente abgeschnürt. Mehrere der Doppelchromosomen hängen endweise zu einer Kette zusammen. Spärliche Spindelfasern.

Fig. 44. Die Tochterchromosomen sind z. T. längsgespalten (vgl. besonders das linke untere Segment) und sind sehr unregelmäßig, fast perlschnurartig gebaut.

Fig. 45. Metaphase. Keine Spindelfasern. Ein extranuklearer Nukleolus.

Fig. 46. Metaphase mit gedrehten Chromosomen.

Fig. 47. Ein Doppelchromosom beim Beginn der Separation der Hälften.

Fig. 48. Querschnitt durch eine Äquatorialplatte. Die meisten Chromosomen wurden in der Mitte vom Messer getroffen. Spindelsubstanz mit längslaufenden Fasern. Keine deutlichen Spindelpole.

Fig. 49. Metaphase. Die Spindelfasern gehen gruppenweise von Körnchen im Plasma aus und bilden also mehrere „Spindeln".

Fig. 50. Ein Doppelchromosom, das an einem Ende (artifiziell?) segmentiert ist.

Fig. 51. Ein ebenfalls segmentiertes Doppelchromosom aus demselben Präparat wie 50.

Fig. 52. Metakinese. Recht schön ausgebildete Spindel mit zahlreichen längslaufenden und größtenteils von den Chromosomen unabhängigen Fasern. Die Tochterchromosomen sind schleifenförmig und mit kleinen unregelmäßigen Körnchen besetzt.

Fig. 53. Anaphase. Sehr wenige Spindelfasern. (Pleromzelle.)

Fig. 54. Anaphase mit regelmäßig U-förmigen Chromosomen.

Fig. 55. Anaphase. Sehr weitgehende Quersegmentierung der Tochterchromosomen (vgl. Präparation). Das Plasma nicht gezeichnet.

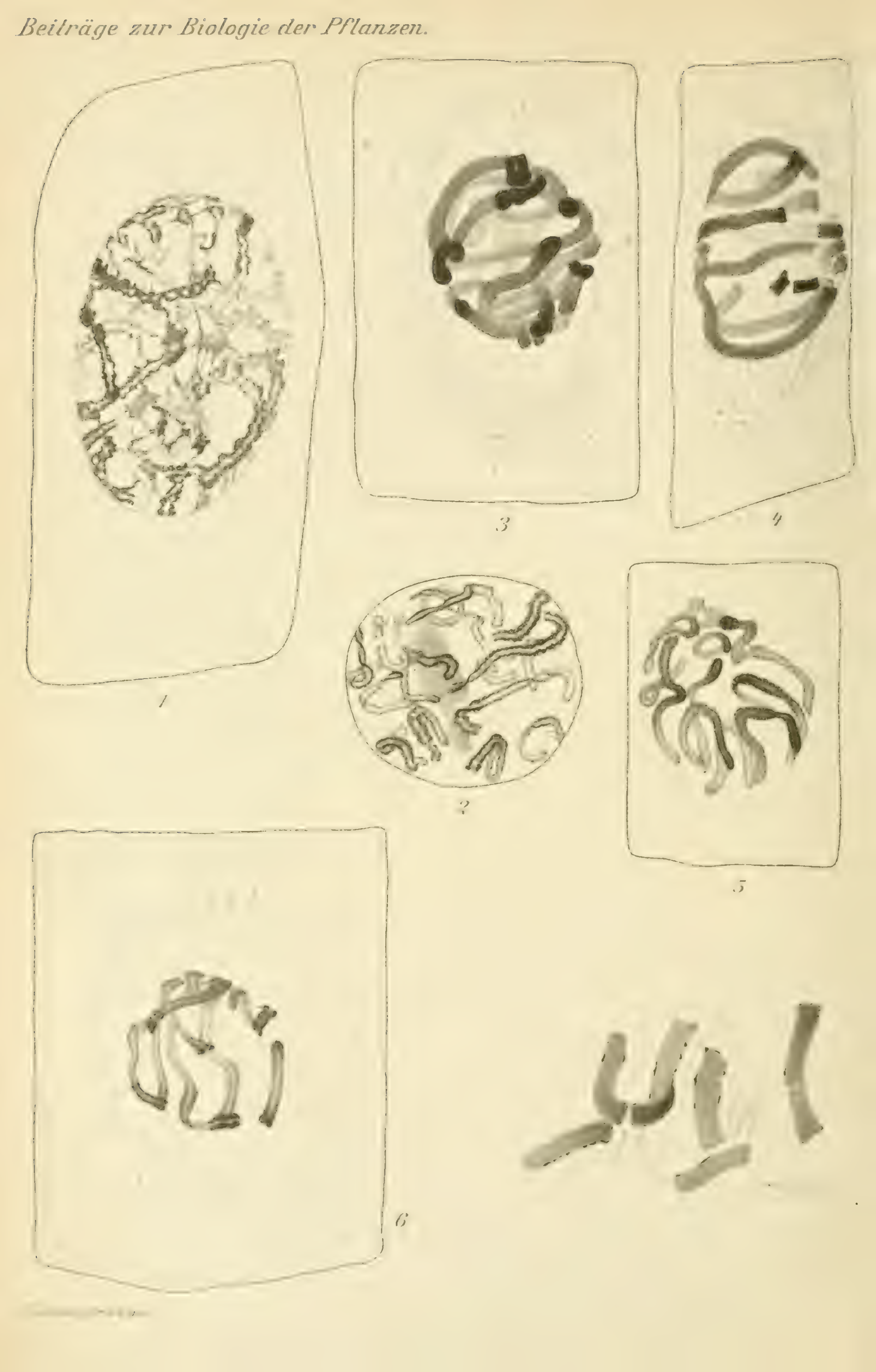
Fig. 56. „Tassement polaire" (Grégoire) ohne seitliche Verschmelzung der Chromosomen.

Fig. 57. Telophase. Phragmoplast.

Fig. 58. Metaphase von *Cucurbita*. Keine typische Spindel, nur längsgerichtete Fadenbündel, die von den sehr kleinen und in einer ganz planen Äquatorialplatte liegenden Chromosomen ausgehen. Große, in der Äquatorialplatte liegende und in der Mitte eingeschnürte extranukleare Nukleolen.

Fig. 59. Anaphase. Fast parallele Spindelfäden. An einem „Pole" (d. h. in einem Polplasma) liegt ein großer von einer Vakuole umgebener Nukleolus.




1
3
4
2
5
6

7

8

9

12

11

10

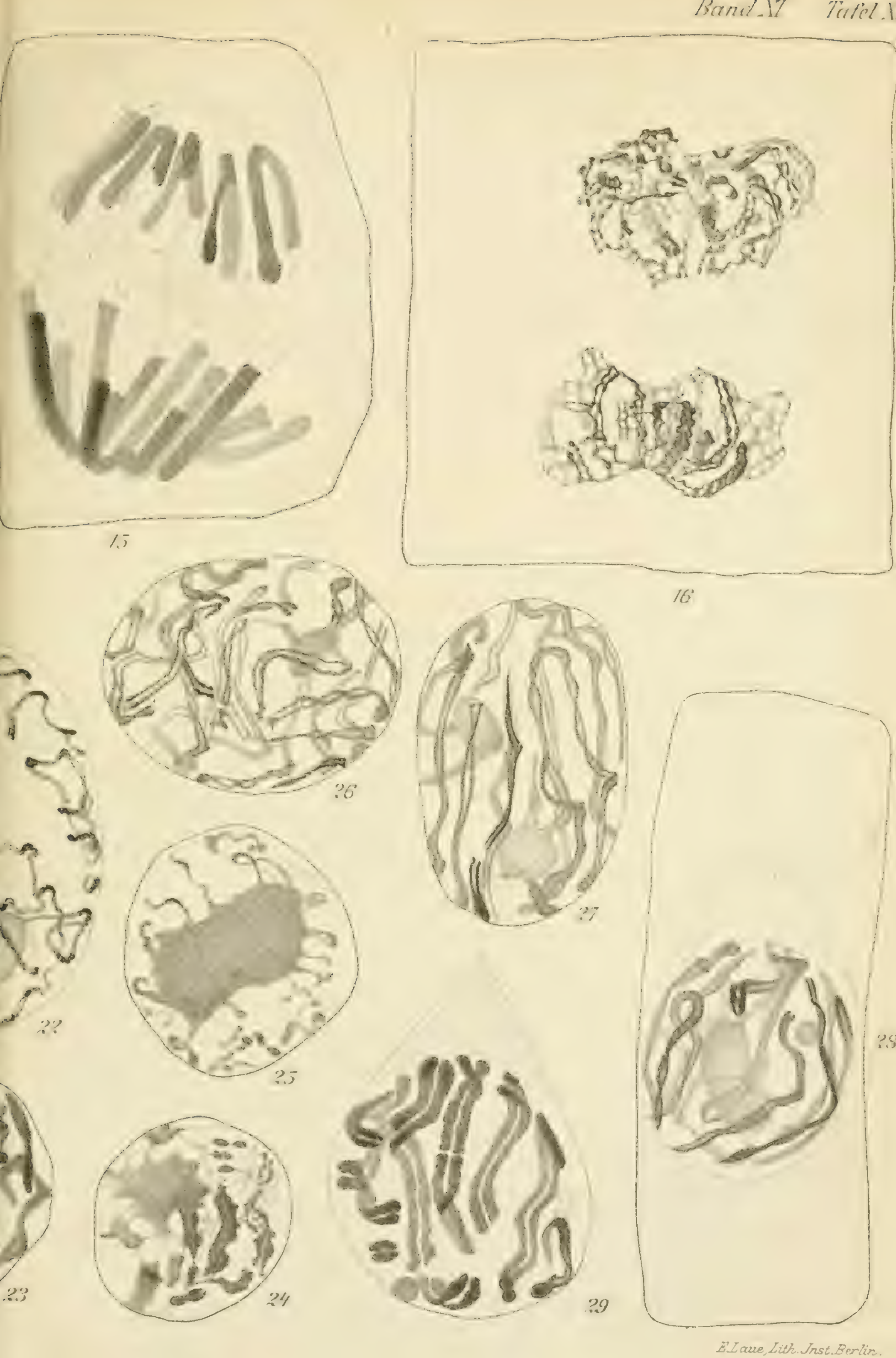
E. Laue, Lith. Inst. Berlin.







H. Lundegårdh del.



E. Laue, Lith. Inst. Berlin.





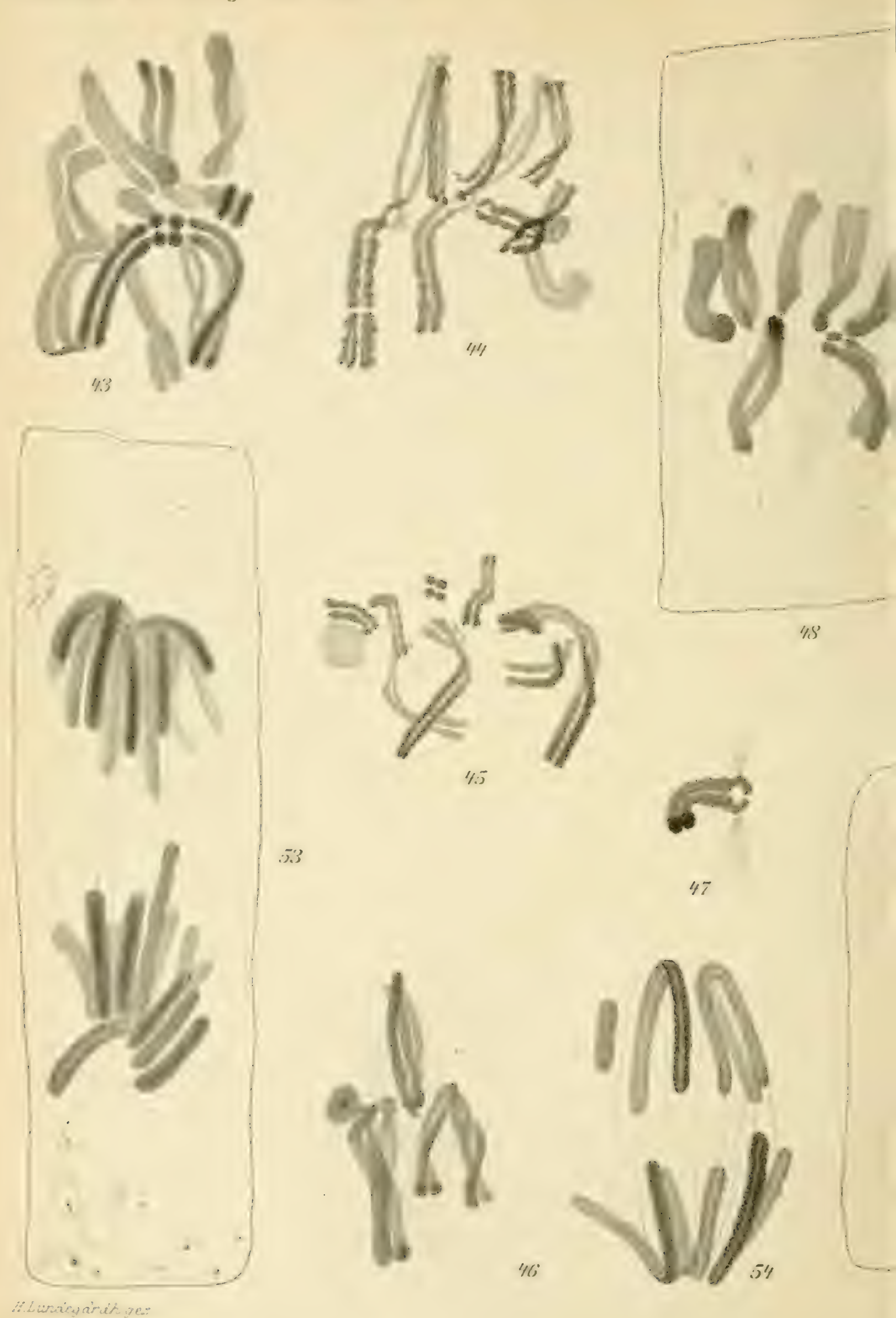

30
30a
31
35
32
33
39



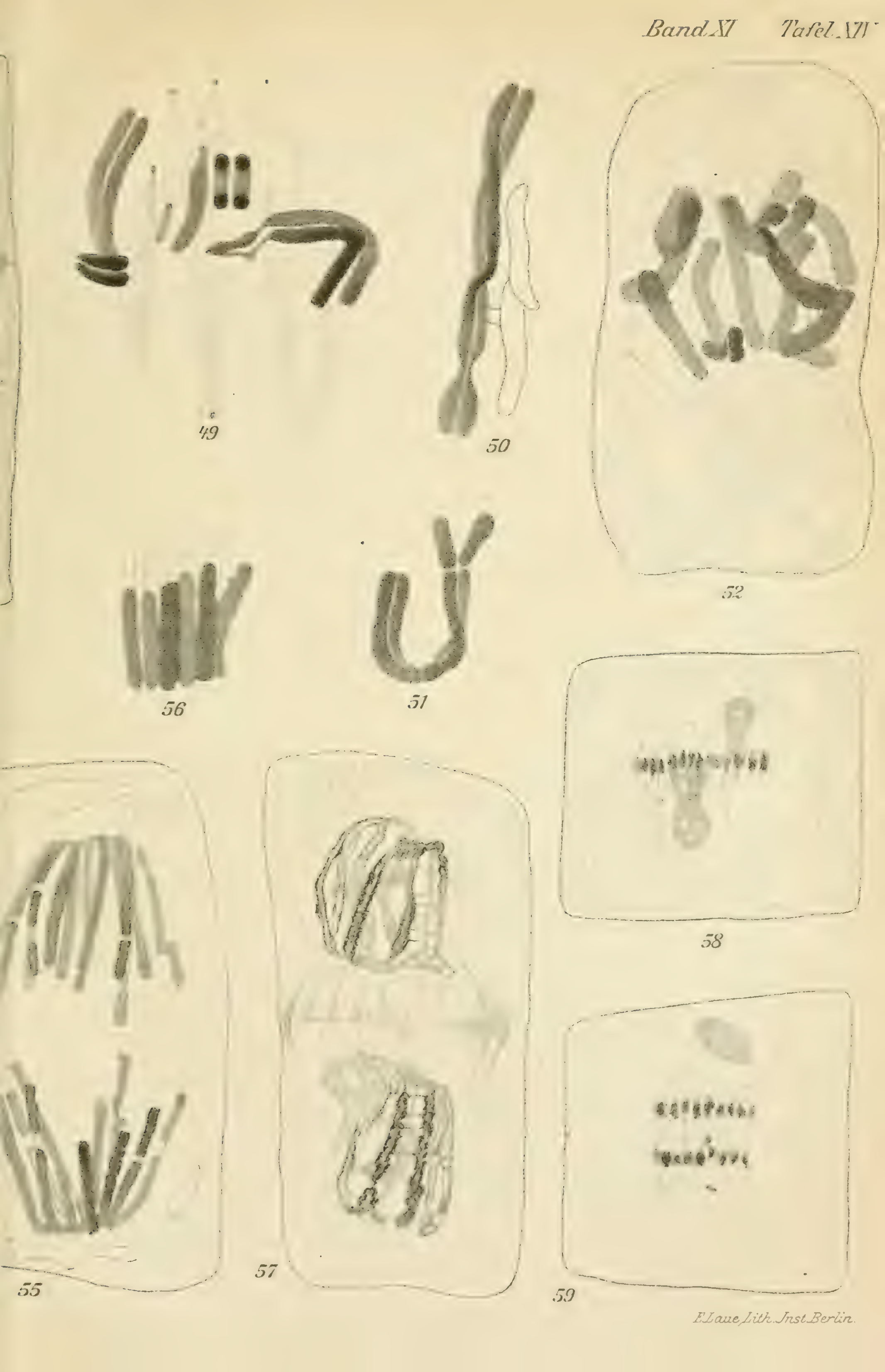
E. Laue, Lith. Inst. Berlin.







H. Lundegårdh gez.



E. Laue Lith. Inst. Berlin.



